

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
AGRONOMSKI FAKULTET**

**PROCJENA DORMANTNOSTI I POSLIJEŽETVENOG  
DOZRIJEVANJA U POPULACIJI REKOMBINANTNIH  
INBRED LINIJA PŠENICE**

DIPLOMSKI RAD

Bruno Rajković

Zagreb, prosinac, 2017.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**  
**AGRONOMSKI FAKULTET**

Diplomski studij:  
Biljne znanosti

**PROCJENA DORMANTNOSTI I POSLIJEŽETVENOG  
DOZRIJEVANJA U POPULACIJ REKOMBINANTNIH  
INBRED LINIJA PŠENICE**

DIPLOMSKI RAD

Bruno Rajković

Mentor: Prof. dr. sc. Hrvoje Šarčević

Neposredni voditelj: Dr. sc. Ana Lovrić

Zagreb, prosinac, 2017.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
AGRONOMSKI FAKULTET**

**IZJAVA STUDENTA  
O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI**

Ja, **Bruno Rajković**, JMBAG 0178091080, rođen dana 05.12.1992. u Zagrebu,  
izjavljujem da sam samostalno izradio diplomski rad pod naslovom:

**PROCJENA DORMANTNOSTI I POSLIJEŽETVENOG DOZRIJEVANJA U POPULACIJI  
REKOMBINANTNIH INBRED LINIJA PŠENICE**

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedini autor ovoga diplomskog rada;
- da su svi korišteni izvori literature, kako objavljeni tako i neobjavljeni, adekvatno citirani ili parafrazirani, te popisani u literaturi na kraju rada;
- da ovaj diplomski rad ne sadrži dijelove radova predanih na Agronomskom fakultetu ili drugim ustanovama visokog obrazovanja radi završetka sveučilišnog ili stručnog studija;
- da je elektronička verzija ovoga diplomskog rada identična tiskanoj koju je odobrio mentor;
- da sam upoznat s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
*Potpis studenta*

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
AGRONOMSKI FAKULTET**

**IZVJEŠĆE**

**O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA**

Diplomski rad studenta **Bruno Rajković**, JMBAG 0178091080, naslova

**PROCJENA DORMANTNOSTI I POSLIJEŽETVENOG DOZRIJEVANJA U POPULACIJI**

**REKOMBINANTNIH INBRED LINIJA PŠENICE**

obranjen je i ocijenjen ocjenom \_\_\_\_\_, dana \_\_\_\_\_.

Povjerenstvo:

potpisi:

- |    |                              |                     |       |
|----|------------------------------|---------------------|-------|
| 1. | Prof.dr. sc. Hrvoje Šarčević | mentor              | _____ |
|    | Dr. sc. Ana Lovrić           | neposredni voditelj | _____ |
| 2. | Prof. dr. sc Snježana Kereša | član                | _____ |
| 3. | Prof. dr. sc Zlatko Šatović  | član                | _____ |



## Sadržaj

1. Uvod .....	1
1.1. Cilj rada.....	2
2. Pregled literature .....	3
2.1. Pšenica ( <i>Triticum aestivum</i> L.).....	3
2.2. Oplemenjivanje pšenice .....	3
2.3. Priježetveno proklijavanje .....	4
2.4. Mehanizmi otpornosti na priježetveno proklijavanje .....	5
2.5. Dormantnost zrna .....	6
2.5.1. Dormantnosti uzrokovana sjemenom ljuskom .....	5
2.5.2. Sekundarna dormantnost .....	5
2.5.3. Korelacija koncentracije regulatora rasta i dormantnosti .....	6
2.5.4. Varijabilnost dormantnosti između različitih genotipova pšenice .....	7
2.6. Utjecaj klimatskih čimbenika u periodu prije žetve na ekspresiju dormantnosti odnosno otpornosti na priježetveno proklijavanje.....	7
2.7. Povezanost otpornosti na priježetveno proklijavanje i nekih agronomskih svojstava .....	9
2.7.1. Otpornost na polijeganje.....	10
2.7.2. Fungicidi .....	10
2.7.3. Otpornost na zimu .....	10
2.7.4. Visina.....	10
2.7.5. Ranozrelost .....	11
2.8. Korelacije između raznih pokazatelja proklijavanja u klasu.....	11
2.8.1. Dormantnost i proklijavanje u klasu .....	11
2.8.2. Hagbergov padajući broj i $\alpha$ -amilaza .....	11
2.8.3. Proklijavanje u klasu i $\alpha$ -amilaza .....	12
3. Materijal i metode .....	13
3.1. Izbor roditelja za križanja i razvoj RIL potomstva .....	13
3.2. Poljski pokus.....	14
3.3. Zapažanja u vegetaciji .....	14

3.4.	Laboratorijski test klijavosti s ovršenim zrnima za procijenu dormantnosti...	14
3.5.	Statistička obrada podataka.....	15
4.	Materijal i metode .....	17
4.1.	Analiza varijance i heritabilnost.....	17
4.2.	Dormantnost zrna .....	18
4.3.	Posliježetveno dozrijevanje.....	20
4.3.1.	Brzina posliježetvenog dozrijevanja .....	20
4.3.2.	Trajanje posliježetvenog dozrijevanja.....	21
4.4.	Uzorak posliježetvenog dozrijevanja.....	22
4.5.	Ranozrelost i visina.....	26
5.	Zaključak.....	29
6.	Popis literature .....	30
	Životopis.....	35

## **Sažetak**

Diplomskog rada studenta **Bruno Rajković**, naslova

### **PROCJENA DORMANTNOSTI I POSLIJEŽETVENOG DOZRIJEVANJA U POPULACIJI REKOMBINANTNIH INBRED LINIJA PŠENICE**

Priježetveno proklijavanje negativno utječe na prinos i kvalitetu zrna pšenice. Glavne komponente otpornosti na priježetveno proklijavanje su dormantnost zrna u žetvenoj zriobi i brzina gubitka dormantnosti tijekom posliježetvenog dozrijevanja

U provedeno istraživanje je bilo uključeno 120 rekombinantnih inbred linija (RIL) ozime pšenice i dvije roditeljske sorte, različite otpornosti na priježetveno proklijavanje, koji su uzgajani 2015/16. godine u pokusu postavljenom prema slučajnom bloknom rasporedu u dvije repeticije na lokaciji Zagreb-Botincec. Pomoću testova klijavoti s ovršenim zrnima u žetvenoj zriobi i tijekom perioda posliježetvenog dozrijevanja, procijenjena je dormantnost zrna kod 120 RIL potomstava. U RIL populaciji je opaženo transgresivno razdvajanje uglavnom u smjeru slabije izražene dormantnosti. Uzorak posliježetvenog dozrijevanja je bio različit kod ispitivanih RIL potomstava s izraženom nekonzistentnošću između krivulja energije klijanja i klijavosti. Simulirana selekcija na dormantnost zrna u RIL populaciji uvjetovala je smanjenje visine biljke, kao i kasnije nastupanje klasanja.

**Ključne riječi:** Pšenica, priježetveno proklijavanje, selekcija, dormantnost zrna



## Summary

Of the master's thesis – student **Bruno Rajković**, entitled

### **ASSESSMENT OF DORMANCY AND AFTER-RIPENING IN POPULATION OF RECOMBINANT INBREED LINES**

Preharvest sprouting negatively affects the yield and quality of wheat grain. The main components of resistance to sprouting are the grain dormancy at harvest maturity and the rate of loss of dormancy during the postharvest ripening. The study involved 120 recombinant inbred lines (RIL) of winter wheat and two parental varieties differing in preharvest sprouting resistance, which were grown in 2015/16. in a field trial set up as randomized complete block design in two repetitions at the Zagreb-Botincec site. By using the germination tests with threshed grain in the harvest period and during the postharvest maturation period, grain dormancy was estimated at 120 RIL subspecies. In the RIL population was observed transgressive segregation, mainly in the sense of weaker expressive dormancy. The pattern of postharvest maturation was different in the investigated RIL subspecies with the pronounced inconsistency between the germination and germination energy curves. Simulated grain selection in RIL population caused a decrease in plant height as well as subsequent gradation.

**Keywords:** wheat, preharvest sprouting, selection, grain dormancy

## 1. Uvod

Pšenica (*Triticum aestivum* L.) je jednogodišnja biljka roda *Triticum*, spada u porodicu trava (*Poaceae*, *Gramineae*), te je jedna od glavnih ratarskih kultura u svijetu. Martinčić i Kozumplik (1996.) smatraju da pšenica osigurava gotovo 20% ukupnih kalorija za ishranu ljudi u svijetu. Primarna je kultivirana biljka koja osigurava hranu za 35% svjetske populacije u 43 zemlje (Reitz, 1967.).

Samim time ističe se važnost razvoja novih modernih kultivara pšenice, koji imaju visok, stabilan i kvalitetan prinos, uz otpornost na mnoštvo biotskih i abiotičkih stresova. Ukoliko se dogodi da se neposredno prije ili u vrijeme žetvene zriobe poveća količina oborina, odnosno kiše, klijanje već fiziološki zrelog zrna može početi još na klasu, dok je pšenica još na polju. Ta pojava se naziva priježetveno proklijavanje. Priježetveno proklijavanje zrna u klasu smanjuje prinos po jedinici površine, priježetvenim proklijavanjem se smanjuje i specifična masa zrna što za posljedicu ima i manju hektolitarsku masu. Proklijala zrna i brašno dobiveno iz njih imaju povećanu aktivnost  $\alpha$ -amilaze, što se negativno manifestira na kvalitetu kruha. Opasnost od proklijavanja izrazito je povećana u poleglom usjevu, zbog toga što je u takvim uvjetima otežano sušenje, te je povećana relativna vlaga zraka. Priježetveno proklijavanje je problem u usjevima pšenice na kojem se intenzivno radi još od početka 20. stoljeća. Tako je Nilsson-Ehle. (1914.) na osnovi svojih istraživanja zaključio, da je sposobnost bržeg ili sporijeg klijanja nakon zriobe kod pšenice nasljedno svojstvo uvjetovano mnogim faktorima. Mares (1993.) i Biddulph i sur. (2005.) navode da se otpornost na priježetveno proklijavanje kod pšenice nasljeđuje kao kvantitativno svojstvo, odnosno pod velikim je utjecajem okolinskih faktora i značajna je interakcija genotip x okolina. Razina dormantnosti zrna u žetvenoj zriobi kao i brzina gubitka dormantnosti tijekom posliježetvenog dozrijevanja glavne su komponente otpornosti na priježetveno proklijavanje kod pšenice (Derera, 1990.).

Prema Šarčeviću (1998.) u Hrvatskoj vlažni uvjeti u žetvi nisu česti u glavnim proizvodnim područjima (Slavoniji i Baranji), ali se i tamo javljaju u oko 20% godina. U zapadnim područjima Hrvatske, a naročito u njenim brdsko-planinskim područjima, kiša u vrijeme žetve pšenice nije neobična pojava, što izrazito povećava opasnost od priježetvenog proklijavanja zrna u klasu.

Testovi za utvrđivanje otpornosti na proklijavanje u klasu općenito uključuju prirodne ili umjetne tretmane vlaženjem, nakon kojih slijedi utvrđivanje stupnja do kojeg je napredovalo klijanje, dok se dormantnost utvrđuje testovima klijavosti s ovršenim zrnima. Razvijeni su i različiti testovi, koji mjere stupanj degradacije škrobnih i proteinskih rezervi i aktivnost hidrolitičkih enzima, kao što su Hagbergov padajući broj, Brabenderov amilograf te različiti postupci izravnog određivanja aktivnosti  $\alpha$ -amilaze (Mares 1989.).

Istraživanje i stvaranje otpornosti na proklijavanje u klasu nedvojbeno je važno ne samo sa znanstvenog već i gospodarskog stajališta. Dobro poznavanje ovog svojstva posebno je važno kod izbora roditelja za kombinacijska križanja te kod izbora sortimenta za komercijalnu proizvodnju na područjima, gdje su vlažni uvjeti za vrijeme žetve česta pojava.

## **1.1. Cilj rada**

U populaciji rekombinantnih inbred linija pšenica

1. Utvrditi dormantnost zrna u žetvenoj zriobi
2. Utvrditi trajanje posliježetvenog dozrijevanja

## 2. Pregled literature

### 2.1. Pšenica (*Triticum aestivum* L.)

Pšenica (*Triticum aestivum* L.) je jednogodišnja biljka roda *Triticum*, spada u porodicu trava (*Poaceae*, *Gramineae*). Prema povijesnim dokazima i nalazištima diljem svijeta smatra se da je pšenica jedna od najstarijih kultiviranih biljaka, koju ljudi uzgajaju više od 10 000 godina. Prije otprilike 5 000 godina počela se uzgajati u istočnoj Europi, dok se u Ameriku i Australiju proširila u 16. i 17. stoljeću. Samo ime "pšenica", uz male preinake, karakteristično je za sve slavenske jezike, što ukazuje na to da je uzgajana i u pradomovini Slavena. Jedna je od najbitnijih ratarskih kultura kako u svijetu tako i u Hrvatskoj. Nezaobilazna je kultura u gotovo svakom plodoredu, a u Hrvatskoj je njome zasijano otprilike 150 000 ha obradivih površina, što varira iz godine u godinu, međutim u zadnjih par godina u Hrvatskoj je vidljiv trend opadanja površina zasijanih pšenicom. Pšenica se uzgaja prvenstveno radi zrna, koje se prerađuje prema namjeni, no ipak najčešće u pšenično brašno. Prema (Martinčić, Kozumplik, 1996.) smatra se da pšenica osigurava gotovo 20% ukupnih kalorija za ishranu ljudi u svijetu. Primarna je kultivirana biljka koja osigurava hranu za 35% svjetske populacije u 43 zemlje (Reitz, 1967.).

S obzirom na kultiviranost *Triticum* vrste su podijeljene u tri skupine: divlje, primitivne i kultivirane vrste (Martinčić, Kozumplik, 1996.) Divlje vrste su kreacija prirode, te čovjek nije utjecao na njihov razvoj. Karakteristike divljih vrsta su: lomljivo klasno vreteno, sitno, pljevicama obavijeno zrno, česta dlakavost, te snažno busanje. Prilagođene su opstanku u prirodi, stoga nemaju poželjna agronomska svojstva, ali su oplemenjivačima bitne, jer često nose gene za otpornost na određene biotske i abiotske stresove. Primitivne vrste spadaju u kultivirane vrste, ali i dalje imaju lomljivo klasno vreteno i obuvno zrno, što izrazito otežava žetvu. Kultivirane vrste su produkt evolucije pod utjecajem prirodne selekcije i čovjeka, odnosno oplemenjivača, one imaju čvrsto klasno vreteno i zrno koje se prilikom vršidbe lako oslobađa iz pljevice (Martinčić, Kozumplik, 1996.)

Ukoliko gledamo genetsku strukturu vrste iz roda *Triticum* spadaju u tri osnovne skupine: diploidnu ( $2n=14$ ), tetraploidnu ( $4n=28$ ) i heksaploidnu ( $6n=42$ ). Diploidna skupina ima genom A, tetraploidna ima genome AB i AG i heksaploidna ima genome ABD i ABG.

### 2.2. Oplemenjivanje pšenice

Pšenica je izrazito samooplodna kultura, sa udjelom stranooplodnje od 1 do 4 %. Samooplodnja uzrokuje homozigotnost, te kao rezultat imamo prirodne, ali i oplemenjivačke populacije, koje su u biti smjesa čistih linija. U stvaranju novih sorti pšenice hibridizacija je uz selekciju i dalje osnovna metoda oplemenjivanja u svim oplemenjivačkim centrima u Hrvatskoj. Koriste se sve metode hibridizacije, od jednostrukog, višestrukog i povratnog križanja do dialelnog križanja, uz primjenu pojedinačne selekcije. Najčešća je pedigre metoda, ali koriste se i povratna križanja, metoda jednog sjemena (single seed method) i masovna selekcija (bulk method) (Martinčić, Kozumplik, 1996.).

Najbitnije svojstvo svake sorte pšenice je dakako njen prinos i kvaliteta zrna, odnosno brašna i kruha, kao konačnog produkta. Stoga je visok i stabilan prinos definitivno primarni cilj pri kreiranju svake nove sorte. No prinos je kvantitativno svojstvo, koje je sačinjeno od mnoštva komponenti (broj klasova na određenoj površini, broj zrna po klasu te sama težina zrna). Osim samih komponenti prinosa na prinos utječu i brojna druga svojstva: otpornost na polijeganje, adaptabilnost sorte u različitim okolinama, otpornost na niske temperature, otpornost na bolesti i štetočinke itd.

Osim ranije spomenutih svojstava, otpornost na priježetveno proklijavanje bitno je svojstvo za dobivanje visokog prinosa sa visokom kvalitetom zrna. Visoka otpornost na priježetveno proklijavanje je jedno od bitnih svojstva kultivara pšenice u uvjetima produljenoga kišnog vremena u razdoblju sazrijevanja zrna (Ikić, 2012.).

U Republici Hrvatskoj štete od priježetvenog proklijavanja nisu konstantne, stoga u hrvatskim oplemenjivačkim programima, otpornosti na priježetveno proklijavanje nije posvećeno dovoljno pažnje. Zbog sve strože regulative u određivanju kvalitete žitarica (Uredba o tržišnom redu za žitarice, NN, br. 75/2008.; Pravilnik o žitaricama, mlinskim i pekarskim proizvodima, tjestenini, tijestu i proizvodima od tijesta, NN, br. 78/05, 135/09, 86/10 i 72/11), nepredvidivih fluktuacija oborina tokom vegetacijske godine, te općenito klimatskih uvijeta, koji stvaraju povoljne uvijete za uzrokovanje priježetvenog proklijavanja. Otpornost na priježetveno proklijavanje postaje sve važnije svojstvo i s oplemenjivačkog, ali i proizvodnog aspekta (Ikić, 2012.).

### **2.3. Priježetveno proklijavanje**

Smanjena dormantnost kod žitarica, koje najčešće uzrokuje priježetveno proklijavanje, stvara probleme ratarima diljem svijeta. Prema Ikiću (2012.) utvrđeno je da se štete od proklijavanja javljaju u svim glavnim područjima proizvodnje pšenice u svijetu i to u tri do četiri od deset vegetacijskih godina (Derera, 1990.). Ikić (2012.) Navodi da postoje regije u svijetu (Kanada, Japan, Australija, Zapadna Europa i dr.) gdje se gubici prinosa uzrokovanog priježetvenim proklijavanjem mjere u milijunima dolara. Derera (1990.) je izvijestio, da su tijekom desetogodišnjeg razdoblja (1978. - 1988.) prosječni godišnji gubici zbog priježetvenog proklijavanja na svjetskoj razini bili oko 500 milijuna \$.

Naime povećana količina kiša neposredno prije ili za vrijeme žetvene zriobe, može izazvati klijanje već fiziološki zrelog zrna dok je pšenica još na polju, odnosno nije požeta. Prema Šarčević (1998.) priježetveno proklijavanje zrna u klasu negativno utječe na prinos zrna po jedinici površine, jer se u žetvi osim plumula i radícula proklijalih zrna gube i sama proklijala zrna (Belderok 1968.). Priježetveno proklijavanje još je veći problem u polegom usijevu, jer je otežano sušenje i povećana je vlaga zraka. Priježetveno proklijavanje uzrokuje i smanjenje specifične mase zrna, što rezultira smanjenjem hektolitarske mase (Derera 1980.). Priježetveno proklijavanje utječe i na kemijski sastav zrna, razgrađuju se škrobne i proteinske rezerve u endospermu, što smanjuje kakvoću zrna, te postaje neprikladno za prerađivačku industriju (Derera 1989.).



Slika 1.1 Priježetveno proklijavanje zrna na klasu pšenice (*Triticum aestivum* L.)

Izvor: <http://msue.anr.msu.edu>

Prema Šarčević (1998.) priježetveno proklijavanje negativno utječe i na sjetvenu kvalitetu pšenice koja se koristiti kao sjemenska. Naime priježetveno proklijavanje rezultira probijanjem perikarpa, te je samim time embrio izložen mehaničkim oštećenjima tokom žetve i dorade sjemena, kao i kemijskom tretiranju sjemena prije sjetve (Chastain i sur. 1994.)

## 2.4. Mehanizmi otpornosti na priježetveno proklijavanje

Ikić (2012.) ukazuje da se otpornost na priježetveno proklijavanje kod sorata pšenice nasljeđuje kao kvantitativno svojstvo i pod izrazitim je utjecajem okolinskih faktora i interakcije genotip x okolina (Mares 1993.; Biddulph i sur. 2005.). Glavne komponente otpornosti na priježetveno proklijavanje su dormantnost zrna za vrijeme žetvene zriobe i brzina gubitka dormantnosti za vrijeme posliježetvenog dozrijevanja (Derera 1990.) No ima i drugih čimbenika poput morfologije klasa (King i Richards 1984.) ili koncentracije vodotopivih inhibitora klijanja u vegetativnim dijelovima cvijeta (Derera i sur., 1977.; McCrate i sur., 1982.) koji mogu uvjetovati otpornost na priježetveno proklijavanje. Širok spektar regulatora rasta utječe na dormantnost sjemena. Walker-Simons (1987.) smatra da apscizinska kiselina (ABA) ima najbitniju ulogu u održavanju dormantnosti. Općenito kultivari pšenice bijele boje zrna zbog pomanjkanja dormantnosti u zriobi osjetljiviji su na priježetveno proklijavanje od kultivara crvene boje zrna. Razlog ovome širem rasponu dormantnosti kod crvenih kultivara povezan je s brojem dominantnih alela za crvenu boju sjemene ljuske (Flintham, 1992.). Međutim, oplemenjivači su uspjeli kreirati genotipove pšenice s bijelim zrnom koji posjeduju visoku razinu dormantnosti (Upadhyay i sur., 1988.; Torada i Amano, 2002.; Yanagisawa i sur., 2005.).

## **2.5. Dormantnost zrna**

Prema Ikiću (2012.) postoji više vrsta dormantnosti: dormantnost embija, dormantnost uzrokovana sjemenom ljuskom, sekundarna dormantnost te posliježetveno dozrijevanje.

Harrington (1923.) navodi da je period posliježetvenog dozrijevanja varijabilno svojstvo koje se razlikuje od sorte do sorte. Harrington tvrdi da je duljina posliježetvenog dozrijevanja sortna karakteristika koja može biti povezana s otpornošću na zimu.

### **2.5.1. Dormantnost uzrokovana sjemenom ljuskom**

Pretpostavlja se da se unutar sjemene ljuske zrna pšenice nalaze specifični inhibitori klijanja, koji direktno reguliraju otpornost na priježetveno proklijavanje. Zbog toga su mnogi znanstvenici svoja istraživanja usmijerili tom problemu. Ikić (2012.) navodi da su Miyamoto i sur. (1961.) koristili biotest embrija pšenice da bi dokazali prisutnost inhibitora klijavosti koji utječu na dormantnost kod sjemena pšenice. Oni ističu da je posliježetvena dormantnost kod pšenice aktivirana inhibitorima koji su bili smješteni u sjemenoj ljusci. Izdvojili su najmanje četiri frakcije inhibitora od kojih je 50 % bilo katehin i katehin tanin, 30 % su bili alkaloidi i 20 % spojevi kojima nije utvrđen kemijski sastav. Navode da je istovremenom primjenom giberelinske kiseline i inhibitora djelovanje frakcije neutvrđenog kemijskog sastava bilo neutralizirano dok je kod frakcije katehin tanina to bilo samo djelomično.

### **2.5.2. Sekundarna dormantnost**

Smatra se da dormantnost može biti inducirana kod pšeničnih zrna koja su bila nedormantna, ali pod uvjetom da nakon žetvene zrelosti imaju sadržaj vlage od 16 % ili više, te da su izložena temperaturi od 4 - 8°C Beldrok (1980.). Taj fenomen se naziva sekundarna dormantnost jer je inducirana nakon žetvene zrelosti i nije ista kao primarna dormantnost koja je prisutna kod žetvene zrelosti.

### **2.5.3. Korelacija koncentracije regulatora rasta i dormantnosti**

McCrack i sur. (1982.) su istraživali korelaciju endogenih vodotopivih inhibitora i klijanja sjemena. Reakcija klijavosti embrija i djelovanje endogenih inhibitora je bila u negativnoj korelaciji, ali je efekt značajno smanjen nakon što je embrio ostavljen određeno vrijeme na sobnoj temperaturi. Razlika u dormantnosti između kultivara, primarno je bila uzrokovana različitom reakcijom njihovih embrija na endogene inhibitore. Giberelinska kiselina je neutralizirala inicijalni inhibicijski efekt endogenog inhibitora na klijavost, ali ne i kasniji

inhibicijski efekt na rast. Oni dolaze do zaključka da otpornost na priježetveno proklijavanje uključuje više faktora, naročito osjetljivost embria na endogeni inhibitor i da te razlike u kvantiteti inhibitora nisu jedine odgovorne za genotipske razlike u osjetljivosti na priježetveno proklijavanje.

Tijekom perioda 1982. - 1984. Salmon i sur. (1986.) su procjenjivali reakciju osam jarih tritikala i dvije jare pšenice na inhibitore klijavosti u vodenom ekstraktu njihovih mekinja. Ekstrakti testirani na sjemenu koje je bilo uskladišteno pri 20°C tri mjeseca samo nakratko su inhibirali klijavost kod svih linija osim genotipa RL4137. Ekstrakti testirani na sjemenu sorte Fielder uskladištenom pri - 20°C ili RL4137 uskladištene pri 20°C inhibirali su klijavost sve do 120 sati. Zaključili su da neovisno o godini, koncentraciji ekstrakta ili temperaturi uskladištenja sjemena, ekstrakti mekinja osiguravaju jako dobru zaštitu protiv klijanja kada je to kombinirano s visokom razinom dormantnosti sjemena.

#### **2.5.4. Varijabilost dormantnosti između različitih genotipova pšenice**

DeMacon i Morris (1993.) su određivali brzinu posliježetvenog dozrijevanja u 24 različita heksaploidna kultivara pšenice koji su bili predstavnici kombinacija svih glavnih američkih tržišnih klasa: bijelih i crvenih zrna, ozimih i jarih formi te tvrdog i mekog endosperma. Biljke su rasle u kontroliranim uvjetima, požete su pri fiziološkoj zrelosti, osušene su brzo i ocijenjene za razinu dormantnosti nakon 0, 4 ili 6 tjedana dozrijevanja. Razina dormantnosti se određivala kumulativnom reakcijom klijavosti. Genotipovi su bili izdvojeni u četiri klase: nedormantni, slabo dormantni, umjereno dormantni te visoko dormantni. Sedam genotipova (Brevor, Clarks Cream, RL4137, Susquehana, Tom Thumb, Transvaal i Vona) su bili uključeni u visoko dormantnu grupu. U toj grupi, svi osim RL4137 i Transvaal pokazali su jednake razine dormantnosti sjemena u zriobi, ali i gubitak dormantnosti kod izrazito različitih stupnjeva. Brevor i Tom Thumb pokazali su mali gubitak dormantnosti nakon 6 tjedana. Iako su RL4137 i Transvaal bili najviše dormantni u zriobi, oni nisu pokazali najviši nivo dormantnosti nakon 4 i 6 tjedana. Prema tome razina gubitka dormantnosti sjemena je veoma varijabilna između različitih genotipova pšenice, i razina dormantnosti kao i razina gubitka dormantnosti su pod različitom regulacijskom kontrolom.

#### **2.6. Utjecaj klimatskih čimbenika u periodu prije žetve na ekspresiju dormantnosti odnosno otpornosti na priježetveno proklijavanje**

Velik broj znanstvenika je istraživao utjecaj klimatskih čimbenika tijekom perioda nalijevanja zrna na intenzitet i trajanje dormantnosti sjemena pšenice. Strand (1989.) tvrdi da 10 - 65% negenetskih razlika kod dormantnosti sjemena može biti uzrokovano vremenskim uvjetima tijekom 20 dana prije zriobe zrna. Temperatura i oborine između cvatnje i zriobe su dva glavna faktora koji imaju utjecaj na intenzitet ekspresije dormantnosti kod pšenice (Nielsen i sur., 1984; Mares, 1993b.).



Beldrok (1968.) je pokušao dokazati negativnu korelaciju sume dnevnih temperatura iznad 12,5°C tijekom faze tijesta (50 - 40% vlage u zrnu) s duljinom trajanja perioda u kojemu je zrno dormantno. Nekoliko autora se nije složilo s Beldrokovom teorijom o ovisnosti temperaturne sume tijekom faze tijesta i trajanja dormantnosti. Olsson i Mattsson (1975.) nisu ovu povezanost pronašli kod svih kultivara, a osim toga oni navode da utjecaj akumulirane temperature tokom faze tijesta na dužinu perioda dormantnosti oscilira iz godine u godinu i od okoline do okoline. Lalluka (1976.) se također protivi ovoj teoriji te tvrdi da je nastupanje proklijavanja vjerojatnije rezultat vremenskih prilika nakon zrelosti nego onih prije zrelosti. Lunn i sur. (2002.) su ispitivali razlike u trajanju perioda dormantnosti kod engleskog kultivara Hornet, došli su do zaključka da je dormantnost bila značajno kraća u vrućoj i suhoj 1995. godini nego u hladnijim i vlažnijim godinama 1996. i 1997. Ni oni nisu prihvatili Beldrokovu teoriju o povezanosti akumulirane temperature tijekom faze tijesta i trajanja perioda dormantnosti. No ipak su pronašli povezanost između trajanja dormantnosti i prosječnih temperatura tijekom faze formiranja zrna, s kratkim periodom dormantnosti koji se događa nakon postizanja visokih prosječnih temperatura.

Ikić (2012.) izvještava da je Strand (1983.) proučavao prosječnu razinu dormantnosti kod većeg broja sorata pšenice, ječma i zobi u voštanoj zriobi te 10, 20 i 30 dana nakon voštane zriobe tokom pet godina. Zaključio je da je dormantnost sjemena u različitim godinama dostigla maksimalnu vrijednost u različitim fazama zrelosti. U vrućoj 1959. godini, maksimalna dormantnost dostignuta je neposredno prije ili u vrijeme voštane zriobe, u 1960. i 1961. godini maksimum je dostignut 10 dana nakon voštane zriobe, dok se u hladnoj 1963. i 1964. godini razina dormantnosti opadala sve do 30 dana nakon voštane zrelosti. Strand zaključuje da predviđanje opasnosti od proklijavanja na osnovi Beldrokovih temperaturnih suma može biti prihvatljivo samo ukoliko klimatski uvjeti ne variraju iz godine u godinu.

Tada razina dormantnosti i vrijeme maksimalne dormantnosti pokazuju male varijacije. Ukoliko se pojavljuju veće oscilacije klimatskih uvjeta, Strand predlaže shemu obavještanja opasnosti od proklijavanja koja se zasniva na: vrijednosti maksimalne dormantnosti sjemena, vremenu nastupanja maksimalne dormantnosti i brzini opadanja dormantnosti. Strand (1989., 1990.) je nakon sprovedenih pokusa na tri genotipa jare pšenice (Runar, Reno i Drabant) zaključio da je utjecaj okolinskih čimbenika na dormantnost kod pšenice bila genotipski specifična. Švedska sorta Drabant je pokazala visoku negativnu korelaciju između razine dormantnosti i prosječnih dnevnih temperatura kroz period 20 dana prije voštane zriobe, kod zrna kojima je omogućeno dozrijevanje 30 dana, a test klijavosti je proveden pri 20°C. Dok je norveška sorta Reno pokazala slabu korelaciju između dormantnosti i prosječnih dnevnih temperatura u istom periodu, kod zrna koja su dozrijevala 10 dana, ali ne i 30 dana, a testovi klijavosti su provedeni pri 10°C, bolje nego pri 20°C.

Drugi norveški kultivar Runar nije pokazao signifikantnu korelaciju između dormantnosti i niti jedne od analiziranih klimatskih varijabli i to temperature, globalne radijacije, oborina i relativne vlažnosti. Kako navode Nielsen i sur. (1984.) proklijavanje raste s porastom velikih dnevnih temperaturnih fluktuacija, niskim dnevnim temperaturama i velikom količinom

oborina u periodu prije kao i nakon fiziološke zriobe. Reddy i sur. (1985.) su utvrdili veću razinu dormantnosti kod pet ozimih kultivara pšenice kada su ih od cvatnje do zrelosti uzgajali na nižoj temperaturi (15°C), nego kada su ih uzgajali na višoj temperaturi (26°C).

Nielsen i sur. (1984.) su također proveli veliko istraživanje kako bi odredili razlike u osjetljivosti između genotipova i identificirali vremenske varijable koje utječu na priježetveno proklijavanje. Za potrebe tog istraživanja uzgojili su sedam linija pšenice bijele boje perikarpa i popularne kultivare crvene boje perikarpa i to na nekoliko različitih lokacija u Kansasu tijekom dvije godine. Promatrali su aktivnost enzima  $\alpha$ -amilaze kod zrna na zrelim klasovima prije i nakon tretmana sa simuliranom kišom. Osim toga promatrali su utjecaj akumuliranih temperatura, fluktuaciju dnevnih temperatura i akumuliranih oborina na aktivnost  $\alpha$ -amilaze prije i nakon tretmana simuliranom kišom. Došli su do zaključka da su linije pšenice bijelog zrna bile uniformno osjetljivije na priježetveno proklijavanje, dok su crvene pšenice bile otpornije.

Aktivnost enzima  $\alpha$ -amilaze prije tretmana kišom je bila manja prve godine i bila je visoka na svima osim na jednoj lokaciji druge godine. Aktivnost  $\alpha$ -amilaze kod zrna sa svih lokacija povećala se nakon tretmana kišom u obje godine. Fluktuacija dnevnih temperatura prije fiziološke zrelosti i oborine nakon fiziološke zrelosti signifikantno su utjecale na aktivnost  $\alpha$ -amilaze kod zrna pšenice koja nisu bila tretirana sa simuliranom kišom. Zapažali su da su ta dnevna kolebanja temperature dva tjedna prije fiziološke zriobe povezana s nižom aktivnošću  $\alpha$ -amilaze, dok na povećanje enzimske aktivnosti utječu oborine prije i nakon fiziološke zriobe.

Mares (1984.) je na temelju rezultata istraživanja ustvrdio da klijavost zrna pšenice kod zrelog zrna pšenice pokazuje značajnu ovisnost o temperaturi. Mares (1993.a, 1993.b) navodi da je razina otpornosti na priježetveno proklijavanje kod pšenice usko povezana s količinom oborina koja padne u 20 dana neposredno prije postizanja žetvene zrelosti. Povećanjem količine oborina tijekom toga perioda, opadala je razina otpornosti na proklijavanje. Osim toga Mares ističe da razina oborina i temperatura, tijekom razvoja zrna i nakon postizanja fiziološke zrelosti zrna, može utjecati na osjetljivost na priježetveno proklijavanje.

Nakatsu (1998.) je proučavao korelaciju vremenskih uvjeta u fazi zriobe na aktivnost  $\alpha$ -amilaze i izoenzime u zriobi i to na istim kultivarima ozime pšenice koristeći kabinete s okolinskim uvjetima. Kod sorte Chihokukomugi čija su zrna pšenice bila izložena hladnim i vlažnim uvjetima (20°C/10°C i 80 do 100 % relativne vlažnosti) i to u ranoj i srednjoj fazi zriobe pokazala su relativno visoku aktivnost  $\alpha$ -amilaze zbog amy-2 izoenzima, u nedostatku klijavosti (RPA: zadržavanje perikarpove  $\alpha$ -amilaze). Kod hladnih i vlažnih uvjeta u kasnijoj fazi zriobe, zrna su klijala u zriobi i visoki pl izoenzimi amy-1 su bili aktivirani (PrMS: predzriobena proklijala  $\alpha$ -amilaza). Kako je sorta Kitakei-1354 pokazala slabu reakciju na vremenske uvjete u fazi zriobe, niska aktivnost  $\alpha$ -amilaze i mala klijavost su bili promatrani konzistentno. Kod sorte Lancer amy-1 je bio aktiviran kod izostanka klijanja (PMAA: predzriobena  $\alpha$ -amilaza) ne samo u hladnim i vlažnim uvjetima nego također i vrućim i suhim uvjetima.

## **2.7. Povezanost otpornosti na priježetveno proklijavanje i nekih agronomskih svojstava**

### **2.7.1. Otpornost na polijeganje**

Šarčević (1998.) navodi da se opasnost od proklijavanja povećava u polegnutim dijelovima usjeva zbog dužeg zadržavanja vlage (Belderok 1968.). Mjoerum (1990.) utvrđuje signifikantnu pozitivnu korelaciju između polijeganja i štete od proklijavanja u godinama s intenzivnim proklijavanjem. U ovakvim uvjetima, linije s boljom čvrstoćom vlasi, bile su manje izložene uvjetima pogodnim za proklijavanje.

### **2.7.2. Fungicidi**

Svensson (1990.) tvrdi da se usljed kasnije primjene fungicida, odnosno nakon klasanja, smanjuje broj padanja kod nekih visokoproteinskih linija jare pšenice.

### **2.7.3. Otpornost na zimu**

Nilsson-Ehle (1914.) i Harrington (1923.) su istraživali korelaciju dormantnosti odnosno sporijeg poslježetvenog dozrijevanja i otpornosti na nisku temperaturu, te su utvrdili negativnu korelaciju. Povezanost otpornosti na zimu i osjetljivosti na proklijavanje dokazao je i (Gale, 1976.).

### **2.7.4. Visina**

Derera i sur. (1977., prema Šarčević 1998.), su utvrdili signifikantnu negativnu korelaciju između visine biljke i početne aktivnosti  $\alpha$ -amilaze u zrnima uzetim pet dana poslije žetvene zrelosti. Međutim, Bhatt i Derera (1980.) i Wu (1987.) nisu dobili signifikantne korelacije između visine biljke i dormantnosti. DePauw i McCaig (1991.) smatraju da je korelacija koju su dobili Derera i sur. (1977.) prividna, jer je genetski izvor otpornosti na proklijavanje i dormantnosti slučajno bio u visokim genotipovima.

### **2.7.5. Ranozrelost**

Bhatt i sur. (1976.) i Derera i sur. (1977.) su utvrdili signifikantnu negativnu korelaciju između ranozrelosti i otpornosti na proklijavanje odnosno aktivnosti  $\alpha$ -amilaze. Međutim ovu korelaciju su u ispitivanjima opovrgnuli DePauwa i McCaiga (1987.) i Wua (1987.).

Hucl (1995. prema Šarčević 1998.) je ispitivao recipročne efekte selekcije na otpornost na proklijavanje odnosno ranozrelost u populacijama iz različitih križanja. Od dviju populacija u kojima je vršio selekciju na ranozrelost samo je u jednoj ranozrelost bila povezana sa smanjenom otpornošću na proklijavanje. U drugom eksperimentu povećana otpornost na proklijavanje bila je povezana sa slabim zakašnjenjem klasanja (1-2,5 dana) kod 4 od 6 ispitivanih populacija.

## **2.8. Korelacije između raznih pokazatelja proklijavanja u klasu**

### **2.8.1. Dormantnost i proklijavanje u klasu**

Mjerenjem proklijavanja zrna u intaktnim klasovima i testova klijavosti provedenih s ovršenim zrnima pri temperaturama od 25 °C i 30 °C Hagemann i Ciha (1984.) su utvrdili signifikantnu pozitivnu korelaciju između tih testova, ali ne i pri temperaturi od 15 °C i 20 °C DePauw i sur. (1989.) su također dobili signifikantnu pozitivnu korelaciju u 7 od 9 usporedbi između ovih dvaju testova. Wu (1987.) je dobio visokosignifikantnu korelaciju između klijavosti ovršnih zrna i postotka proklijalih zrna u intaktnim klasovima.

Paterson i sur. (1989. prema Šarčević 1998.) su ispitivali priježetveno proklijavanje kod 8 linija pšenice u 12 okolina pomoću testa klijavosti odnosno vlažnog tretmana intaktnih klasova. Varijanca okoline i interakcije je bila općenito manja u drugom testu, što je sugeriralo veću osjetljivost dormantnosti na negenetske faktore od svojstava klasa, koji modificiraju priježetveno proklijavanje. Stoga test dormantnosti prema mišljenju autora zahtijeva veći broj okolina ili veći uzorak od 30 zrna, koji je korišten u navedenim istraživanjima. Povećanje uzorka, međutim, u mnogim oplemenjivačkim okolnostima nije moguće (npr. izbor pojedinačnih biljaka). Feng i Wenyan (1993.) su također na osnovi trogodišnjih ispitivanja zaključili, da test s intaktnim klasovima daje ujednačenije rezultate od testa s ovršenim zrnima, zbog njegove visoke F-vrijednosti i niskog srednjeg varijacionog koeficijenta između kultivara.

### **2.8.2. Hagbergov padajući broj i $\alpha$ -amilaza**

Šarčević (1998.) navodi da je Hagbergov padajući broj široko prihvaćena metoda indirektnog određivanja  $\alpha$ -amilaze u prometu pšenice (Gale i Lenton 1987.). Na razlike u Hagbergovom padajućem broju osim aktivnosti  $\alpha$ -amilaze utječu i karakteristike škroba. O razlikama u padajućem broju kod jednake aktivnosti  $\alpha$ -amilaze izvjestio je (Olered, 1967.). Derera i sur. (1977.) su uspoređivali aktivnost  $\alpha$ -amilaze, odnosno padajući broj kod 16 kultivara pšenice i zaključili, da su rezultati u skladu s osjetljivošću kultivara na proklijavanje u klasu. Iznimke su, međutim, bili kultivari CT 932 i Thatcher, kojima su dodijeljene različite ocjene iz dvaju testova. Stoga su autori predložili, da se izbor iz oplemenjivačkog materijala

vrši na osnovi oba kriterija: i Hagbergovog padajućeg broja i aktivnosti  $\alpha$ -amilaze. Slično je i Ringlud (1980.) je našao razlike u padajućem broju uz jednaku razinu aktivnosti  $\alpha$ -amilaze kod većeg broja genotipova jare pšenice, koji su žeti u različitim stadijima zriobe. Uzorak s određenom aktivnošću  $\alpha$ -amilaze imao je povećani padajući broj, ako je žetva bila odgođena. Prema mišljenju autora, objašnjenje za ovu pojavu mogli bi biti poboljšani kapacitet bubrenja ili kakvoća škroba s kasnijom žetvom.

### **2.8.3. Proključavanje u klasu i $\alpha$ -amilaze**

Derera i sur. (1977.) su proučavali korelacije između aktivnosti  $\alpha$ -amilaze nakon vlažnog tretmana u trajanju od 48 sati i ocjena proključavanja u produljenim tretmanima od 48 sati do 7 dana. Autori su zaključili da su za izbor otpornih genotipova oplemenjivaču na raspolaganju dva kriterija : 48 sati vlažnog tretmana i određivanje  $\alpha$ -amilaze ili 7 dana vlažnog tretmana i određivanje postotka proključalih zrna. Signifikantnu pozitivnu korelaciju između proključavanja zrna i  $\alpha$ -amilaze kasnije su potvrdili i drugi autori ( Bhatt i sur. 1981; DePauw i sur. 1989; Soper i sur. 1989.).

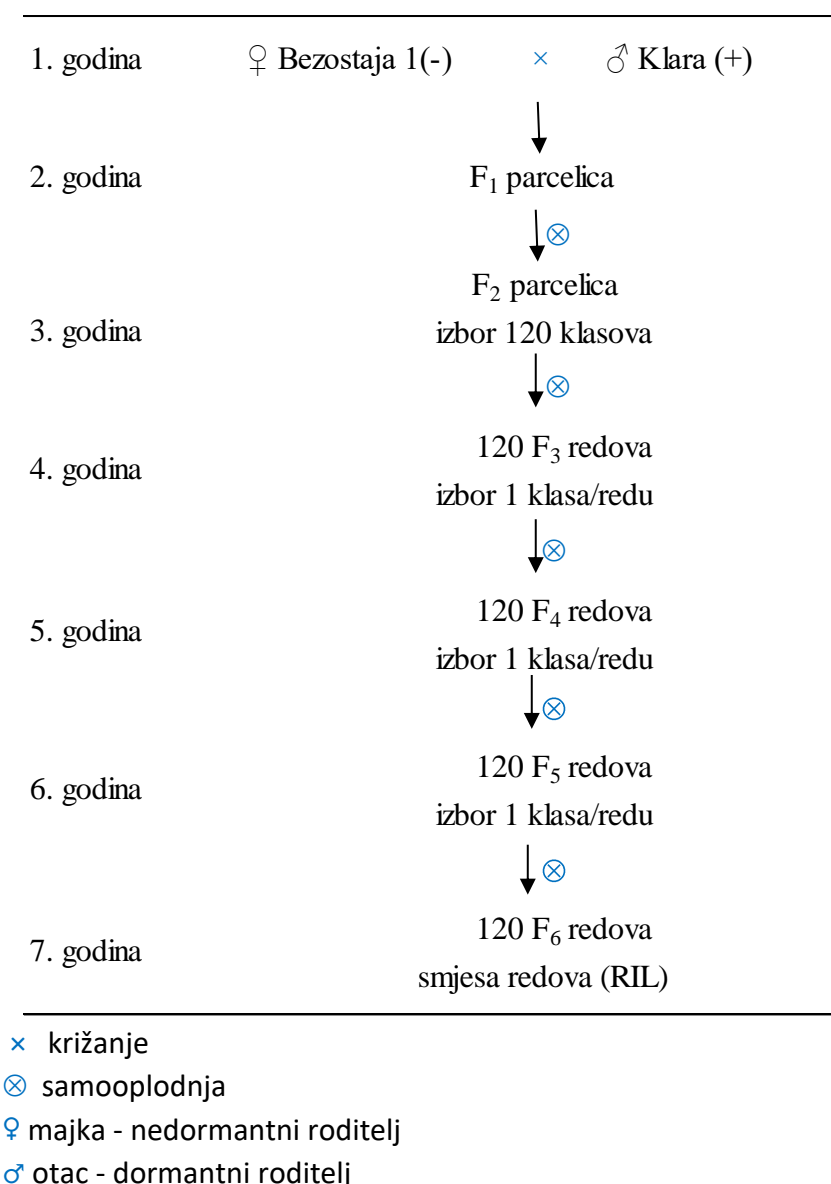
U Ringludovim (1980.) ispitivanjima kultivari s visokom dormantnošću imali su veći Hagbergov padajući broj od nedormantnih kultivara. Slično su i Hagemann i Ciha (1984.) dobili signifikantnu pozitivnu korelaciju između indeksa klijanja i postotka klijavosti s jedne i padajućeg broja u neproključalim zrnima s druge strane, ali niti jedan od navedenih pokazatelja klijavosti nije bio u korelaciji s aktivnošću  $\alpha$ -amilaze u neproključalim zrnima. Oni su ove očigledne nepravilnosti u korelaciji pripisali odsustvu *de novo* sinteze  $\alpha$ -amilaze u neklijalom sjemenu, premda se već dogodila degradacija endosperma.

DePauw i sur. (1989.) su utvrdili signifikantnu pozitivnu korelaciju između postotka klijavosti ovršenih zrna i razine  $\alpha$ -amilaze u zrnima iz neovršenih klasova nakon vlažnog tretmana u 3 od 6 usporedbi.

### 3. Materijal i metode rada

#### 3.1. Izbor roditelja za križanje i razvoj RIL potomstava

U provedeno istraživanje je bilo uključeno 120 rekombinantnih inbred linija (RIL) ozime pšenice i dvije roditeljske sorte, koje su se razlikovale u otpornosti na priježetveno proklijavanje. Križanje je provedeno na pokusnom polju Poljoprivrednog instituta Osijek i uključivalo je na proklijavanje osjetljivu rusku sortu Bezostaja 1 kao ženskog i na proklijavanje otpornu hrvatsku sortu Klara kao muškog roditelja (Slika 1).



Sl. 1. Shema razvoja RIL potomstava ozime pšenice nakon biparentalnog križanja

Slijedeće godine posijana je  $F_1$  generacija u parcelice od  $0,5 \text{ m}^2$ . U žetvenoj zriobi  $F_1$  parcelica je požeta i klasovi su ovršeni na vršalici za male parcelice. Slijedeće godine posijana je  $F_2$  generacija u parcelice od  $5 \text{ m}^2$ . U žetvenoj zriobi požeto je 120 slučajnih klasova koji su pojedinačno ovršeni i sijani slijedeće godine u  $F_3$  generaciji u pojedinačne redove duljine 1,2 m (klas na red).

Razvoj narednih generacija  $F_4$  do  $F_6$  generacije uključivao je potomstva slučajnih pojedinačnih klasova koji su sijani klas na red (modificirana metoda potomstva jedne sjemenke). U  $F_6$  generaciji su u žetvenoj zriobi požeti i ovršeni cijeli redovi da bi se dobilo 120 potomstava RIL, koja su dalje održavana sjetvom u smjesi.

### **3.2. Poljski pokus**

Sjeme 120 RIL potomstava zajedno s roditeljima Bezostajom 1 i Klarom, sijano je 2015/16. godine u pokusu postavljenom prema slučajnom bloknom rasporedu u dvije repeticije na lokaciji Zagreb-Botincec. Pokusi su sijani ručno u parcelice od tri reda duljine 120 cm s međurednim razmakom od 20 cm i 40 cm između parcelica. U svaki red sijano je 100 zrna. Agrotehnički postupci (obrađa, gnojidba, kao i zaštita od korova, bolesti i štetnika) provedeni su kako je uobičajeno u intenzivnoj proizvodnji pšenice u Hrvatskoj.

### **3.3. Zapažanja u vegetaciji**

U vegetaciji je za svaku parcelicu ocjenjen prosječni datum klasanja (kada je 50% biljaka u parceli izbacilo bazu klasa iznad zastavice) i izražen kao broj dana od 1. siječnja do prosječnog datuma klasanja. Deset dana nakon prosječnog klasanja izmjerena je prosječna visina biljaka u parcelici (od tla do baze klasa).

### **3.4. Laboratorijski test klijavosti s ovršenim zrnima za procjenu dormantnosti**

Laboratorijski testovi klijavosti za procjenu dormantnosti zrna provedeni su u intervalima od 10 dana počevši od žetvene zriobe pa sve do završetka posliježetvenog dozrijevanja kod genotipova s najizraženijom dormantnošću (60 dana nakon žetvene zriobe).

Prije postavljanje na klijanje po 40 zrna od svakog genotipa sterilizirano je namakanjem u 2,6% Na-hipokloritu 10 minuta, nakon čega su zrna isprana dva puta u deioniziranoj vodi. Zrna su zatim stavljena u sterilne plastične petrijevke promjera 9 cm, na čijem dnu se nalazio disk filter papira natopljen s 5 ml deionizirane vode. Zrna u petrijevkama su pomoću pincete raspoređena ravnomjerno s brazdicom okrenutom prema dolje. Petrijevke su zatim inkubirane u komori rasta u mraku na  $20^\circ\text{C}$  tijekom šest dana.

Prvo brojanje proklijalih zrna izvršeno je nakon tri dana uz odstranjivanje proklijalih zrna iz petrijevki. Drugo brojanje izvršeno je nakon šest dana. Kao proklijala su brojana ona zrna, koja

su imala probijen perikarp iznad embrija. Postotak proklijalih zrna izračunat je za ukupni broj zrna koja su proklijala nakon tri (energija klijanja) odnosno šest dana (klijavost) prema formuli:

$$\% \text{ proklijalih zrna} = (\text{broj proklijalih zrna} / \text{ukupni broj zrna}) \times 100$$

Na osnovi broja proklijalih zrna izračunat je indeks klijanja (eng. germination index, GI), prema Maguire (1962.), prema formuli:

$$GI = (n_3 / 3 + n_6 / 6),$$

gdje su  $n_3$  i  $n_6$  broj zrna koja su proklijala nakon tri odnosno šest dana, dok su 6 i 3 mjere/vrijednosti pridružene zrnima, koja su proklijala trećeg odnosno šestog dana. GI je obrnuto povezan sa stupnjem dormantnosti zrna, što znači da manji indeks klijanja ukazuje na veću dormantnost zrna.

Brzina posliježetvenog dozrijevanja izražena indeksom posliježetvenog dozrijevanja (afterripening index, ARI) izračunata je također prema Maguire (1962.), prema modificiranoj formuli:

$$ARI = [n_0 / (D_0+1) + \dots n_6 / (D_6+6)]$$

gdje su  $n_0$  do  $n_6$  broj zrna koja su proklijala nakon 0 do 6 dekada posliježetvenog dozrijevanja, dok su  $D_0+1$  do  $D_6+1$  mjere/vrijednosti pridružene zrnima, koja su proklijala nakon nula odnosno šest dekada posliježetvenog dozrijevanja. ARI je obrnuto povezan s brzinom posliježetvenog dozrijevanja, što znači da manji ARI ukazuje na duže posliježetveno dozrijevanje. Parametar ARI je izračunat na osnovi prosječnih vrijednosti genotipa (kroz dvije repeticije) za svojstva broja proklijalih zrna nakon tri odnosno šest dana. Trajanje posliježetvenog dozrijevanja prikazano je u danima od žetve do postizanja 50%-tne odnosno 90%-tne energije klijanja i klijavosti.

### 3.5. Statistička obrada podataka

Za sva istraživana svojstva su izračunata mjerila deskriptivne statistike srednja vrijednost (aritmetičke sredina) i koeficijent varijabilnosti prema Vasilj (2000). Aritmetička sredina izračunata je prema formuli

$$\bar{x} = \sum x / n$$

gdje je  $\sum x$  suma svih podataka uzorka a  $n$  broj podataka. Koeficijent varijabilnosti  $cv$  (%) je izračunat prema formuli

$$cv = (100 \times s) / \bar{x}$$

koja prikazuje standardnu devijaciju ( $s$ ) u dijelovima srednje vrijednosti  $\bar{x}$ . Razlika između srednjih vrijednosti između skupina  $F_7$  linija (kontrola vs. selekcija i golice vs brkulje) testirana je pomoću t-testa u programu MS Excel (2016.).



Za parametre klijavosti (klijavost nakon 3 dana odnosno 6 dana te GI), koji su procijenjeni u pokusu provedena je analiza varijance i LSD test za testiranje razlika između srednjih vrijednosti genotipova pomoću statističkog programa SAS/STAT (SAS Institute Inc. 2003). Na osnovi očekivanja prosječnog kvadrata, dobivenog u analizi ANOVA, za parametre klijavosti su izračunate varijanca genotipa ( $\sigma^2_G$ ) kao i varijanca eksperimentalne pogreške ( $\sigma^2$ ). Izračunate varijance su korištene za procjenu heritabilnosti u širem smislu (ponovljivost) za tri parametra klijavosti prema formuli

$$h^2 = \sigma^2_G / (\sigma^2_G + \sigma^2)$$

Povezanost između svojstava prikazana je grafički kao i računanjem Pearsonovog koeficijenta korelacije ( $r$ ), u programu MS Excel (2016.).

Simulirana selekcija na povećanu dormantnost zrna provedena je u populaciji RIL na osnovi indeksa klijanja (GI) kod dva intenziteta selekcije. Učinak selekcije na srednju vrijednost populacije za svojstvo pod selekcijom kao i za korelirana svojstva procijenjen je pomoću jednosmjernog t-testa u programu MS Excel (2016.).

## 4. Rezultati i rasprava

### 4.1. Analiza varijance i heritabilnost

U tablici 1. su prikazani rezultati analize varijance, komponente varijance te heritabilnost (ponovljivost) za tri parametra klijavosti u tri roka nakon žetve kao i za broj dana do klasanja i visinu biljke kod 120 rekombinantnih inbred linija i njihovih roditelja. Utvrđene su visokosignifikantne razlike između genotipova za sva svojstva. Genotipska varijanca bila je višestruko veća od varijance pogreške za parametre klijavosti u sva tri roka pa su posljedično i procjenjene vrijednosti za heritabilnost bile visoke te su se kretale od 0,82 za energiju klijanja u 1. roku do 0,93 za indeks klijanja u 3. roku. Heritabilnost za energiju klijanja u prvom roku bila je niža od heritabilnosti klijavosti, međutim u kasnijim rokovima ima relativno veću vrijednost.

**Tablica 1.** Analiza varijance za tri parametra klijavosti u tri roka nakon žetve i broj dana do klasanja i visinu biljke kod 120 rekombinantnih inbred linija i njihovih roditelja

Svojstvo	MS-genotip	Sign.	$\sigma^2_G$	$\sigma^2$	$h^2$
Parametar klijavosti					
1. rok - 0 dana od žetve					
Energija klijanja (%)	945.9	**	426.0	93.8	0.82
Klijavost (%)	835.9	**	392.1	51.7	0.88
Indeks klijanja GI	199.3	**	93.2	12.8	0.88
2. rok - 10 dana od žetve					
Energija klijanja (%)	1230.0	**	579.4	71.1	0.89
Klijavost (%)	410.8	**	194.6	21.6	0.90
Indeks klijanja GI	208.0	**	99.1	9.7	0.91
3. rok - 20 dana od žetve					
Energija klijanja (%)	1035.1	**	494.8	45.4	0.92
Klijavost (%)	299.8	**	140.3	19.2	0.88
Indeks klijanja GI	175.0	**	84.2	6.6	0.93
Poljsko zapažanje					
Klasanja (br. dana)	5.5	**	2.27	0.95	0.71
Visina biljke (cm)	128.2	**	56.7	14.9	0.79

MS - prosječni kvadrat; Sign.- signifikantnost F testa za učinak genotipa;  $\sigma^2_G$  - varijanca genotipa;  $\sigma^2$  - varijanca pogreške

Slične rezultate je dobio i (Ikić, 2012.) koji izvješćuje o smanjenju heritabilnosti za klijavost i povećanju heritabilnosti za energiju klijanja nakon 15 dana posliježetvenog dozrijevanja kod 25 genotipova ozime pšenice uzgajanih u osam okolina.

Kod poljskih zapažanja (Tablica 1.) je procijenjena heritabilnost bila nešto niže nego kod parametara klijavosti i iznosila je 0,71 za broj dana do klasanja i 0,71 za visinu biljke.

## 4.2. Dormantnost zrna

Dormantnost zrna procijenjena parametrima klijavosti prikazana je za tri roka ispitivanja (0 do 20 dana od žetve) budući da izražena dormantnost zrna u tom periodu daje genotipu željenu otpornost na priježetveno proklijavanje. U (Tablica 2.) su prikazani prosjeci parametara klijavosti u tri roka nakon žetve za roditelje Bezostaju 1 i Klaru te njihova RIL potomstva. Klara je kao dormantni roditelj imala signifikantno niže vrijednosti parametara klijanja u sva tri roka nakon žetve. Prosjek RIL potomstava bio je znatno (većinom signifikantno) veći od prosjeka roditelja i po vrijednosti vrlo blizu nedormantnom roditelju Bezostaji 1. Raspon vrijednosti RIL potomstava za klijavost bio je najveći u 1. roku, za energiju klijanja u 2. roku dok se za indeks klijanja GI smanjivao od 1. do 3. roka nakon žetve.

**Tablica 2.** Prosjeci parametara klijavosti u tri roka nakon žetve za roditelje Bezostaju 1 i Klaru te RIL potomstva

Parametar klijavosti	Bezostaja 1	Klara	MP	RIL potomstva		
				$\bar{x}$	$\bar{x}$ -MP	VŠ
0 dana od žetve						
Energija klijanja (%)	31	2	17	34	18 ns	(3 - 93)
Klijavost (%)	83	13	48	78	30**	(16 - 100)
Indeks klijanja - GI	24	3	14	25	11**	(4 - 47)
10 dana od žetve						
Energija klijanja (%)	68	12	40	63	24**	(9 - 100)
Klijavost (%)	96	52	74	90	16**	(41 - 100)
Indeks klijanja - GI	39	13	26	36	11**	(11 - 50)
20 dana od žetve						
Energija klijanja (%)	78	14	46	74	28**	(14 - 100)
Klijavost (%)	98	59	78	92	14**	(45 - 100)
Indeks klijanja - GI	42	14	28	40	12**	(15-50)

MP – prosjek roditelja;  $\bar{x}$  – prosjek; \*\*-razlika signifikantna kod  $P < 0,01$ ; VŠ – varijacijska širina (raspon)

U (Tablica 3.) je prikazan broj RIL potomstava s vrijednostima parametara klijavosti većim od lošijeg roditelja Bezostaje 1 (> Bezostaja 1), manjim od boljeg roditelja Klare (< Klara) te jednakih boljem roditelju (= Klara). Veliki broj RIL potomstava (50 do 65) imao je vrijednosti parametara klijavosti veće od nedormantnog roditelja, dok je samo 1 do 5 RIL potomstava imalo veće vrijednosti parametara klijavosti od dormantnog roditelja Klare. Broj RIL potomstava s vrijednostima parametara klijavosti na razini dormantnog roditelja Klare u prva dva roka je veći za energiju klijanja nego za klijavost. Ovo je naročito izraženo u 1. roku kada je 42 RIL potomstva imalo jednaku razinu energije klijanja kao Klara. Slično rezultatima ovoga rada (Mares, 1998.) je izvijestio da je F<sub>2</sub> generacija iz križanja genotipova pšenice različitog stupnja dormantnosti pokazivala značajke klijavosti slične nedormantnom roditelju. Nasuprot tome, u istraživanju (Hickey i sur., 2009.) kod šest od sedam kombinacija križanja prosjek klijavosti neselekcioniranih F<sub>4</sub> potomstava bio je na razini roditeljskog prosjeka za klijavost, dok je kod jedne kombinacije prosječna klijavost F<sub>4</sub> potomstava bila bliža vrijednosti klijavosti dormantnog roditelja. Sukladno prosjeku za parametre klijavosti koji su u ovome radu bili pomaknuti prema nedormantnom roditelju, broj transgresivnih razdvajanja u smjeru povećane dormantnosti bio je minimalan. Nasuprot tome (Yanagisawa i sur., 2005) i (Hickey i sur., 2009) izvještavaju o pozitivnim transgresijama za otpornost na priježetveno proklijavanje opaženo u većem broju križanja divergentnih roditelja.

**Tablica 3.** Broj RIL potomstava s vrijednostima parametara klijavosti većim od lošijeg roditelja Bezostaje 1 (> Bezostaja 1), manjim od boljeg roditelja Klare (< Klara) te jednakih boljem roditelju (= Klara)

Parametar klijavosti	Broj potomstava RIL		
	> Bezostaja 1	< Klara	= Klara
0 dana od žetve			
Energija klijanja (%)	58 (29) <sup>#</sup>	0	42
Klijavost (%)	58 (15)	0	3
Indeks klijanja GI	60 (30)	0	9
10 dana od žetve			
Energija klijanja (%)	59 (30)	2 (0)	16
Klijavost (%)	50 (0)	5 (2)	8
Indeks klijanja GI	59 (17)	1 (0)	13
20 dana od žetve			
Energija klijanja (%)	65 (32)	0 (0)	5
Klijavost (%)	52 (0)	5 (1)	6
Indeks klijanja GI	63 (26)	0 (0)	6

<sup>#</sup> - u zagradi broj potomstava sa signifikantno većim ili manjim vrijednostima parametara klijavosti od roditelja

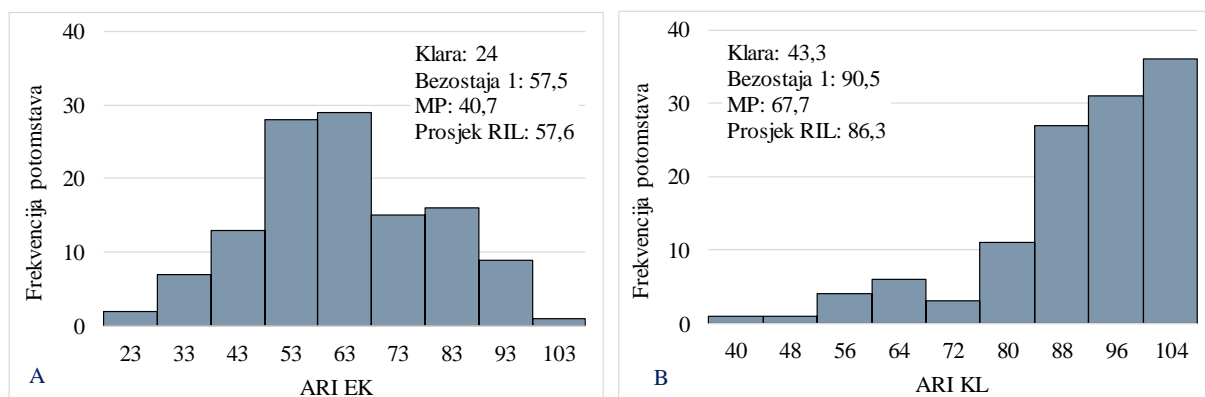
U ovome radu je opažen veći broj RIL potomstava sa jednakom razinom energije klijanja kao kod dormantnog roditelja Klare nego što je to bio slučaj kod klijavosti. Niska energija klijanja odnosno odgođeno klijanje zrna u početku njegove izloženosti vlažnim uvjetima može biti važno svojstvo u zaštiti genotipa od proklijavanja kod kraćih kišnih perioda u vrijeme žetvene zriobe (Ikić, 2012). (Hickey i sur., 2009.) su također izvijestili o pojavi odgođenog klijanja u F4 generaciji nakon selekcije na povećanu dormantnost zrna u prethodne dvije razdvajajuće generacije (F2 i F3) za nekoliko kombinacija križanja pšenice.

### 4.3. Posliježetveno dozrijevanje

Brzina posliježetvenog dozrijevanja procijenjena je pomoću indeksa posliježetvenog dozrijevanja (ARI) dok je trajanje posliježetvenog dozrijevanja prikazano u danima od žetve do postizanja 50%-tne odnosno 90%-tne energije klijanja i klijavosti. Razlike u uzorcima posliježetvenog dozrijevanja prikazane su i krivuljama posliježetvenog dozrijevanja za manji broj genotipova.

#### 4.3.1. Brzina posliježetvenog dozrijevanja

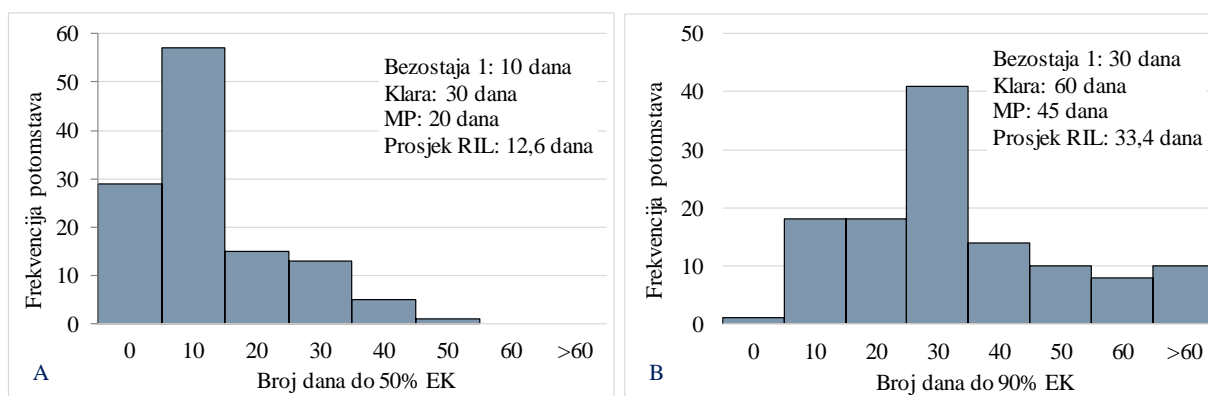
Na (grafikon 1.) prikazane su distribucije frekvencija za indeks posliježetvenog dozrijevanja (ARI), energiju klijanja (EK) i klijavost (KL) kod 120 potomstava RIL iz križanja Bezostaja 1 × Klara. Kako je za očekivati nedormantni roditelj Bezostaja 1 ima veći ARI za energiju klijavosti 57,5 (grafikon 1., A) i za klijavost 90,5 (grafikon 1. B), dok Klara ima manji ARI za energiju klijavosti 24 (grafikon 1., A) i za klijavost 43,3 (grafikon 1., B). Prosjek roditelja ARI za energiju klijanja je iznosio 40,7 (grafikon 1., A), a za klijavost 86,3 (grafikon 1., B). Što se tiče ARI za energiju klijavosti RIL su raspoređene u normalnu distribuciju sa prosjekom RIL-a od 57,6. Dok se prema distribuciji frekvencija vrijednosti RIL za ARI vidi da je distribucija pomaknuta prema nedormantom roditelju.



**Grafikon 1. A i B** Distribucija indeksa posliježetvenog dozrijevanja (ARI) za energiju klijanja (EK) (A) i klijavost (KL) (B) kod 120 potomstava RIL iz križanja Bezostaja 1 × Klara; MP-prosjek roditelja

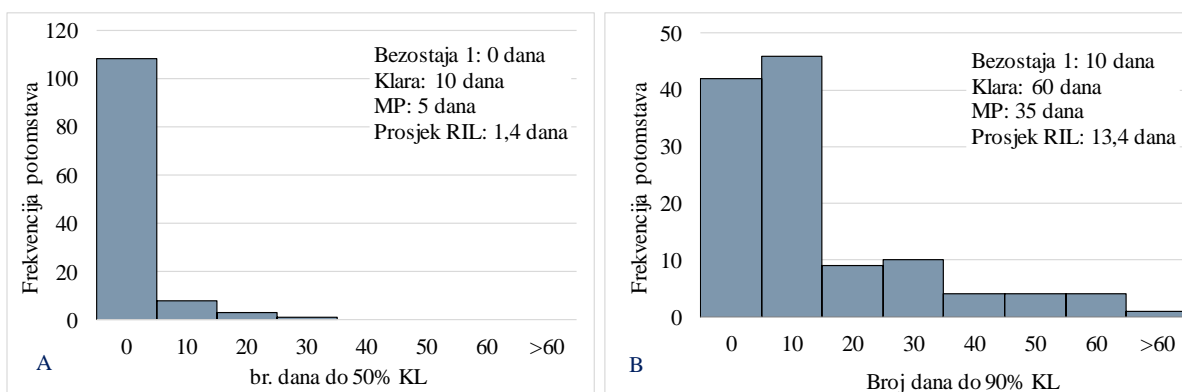
### 4.3.2. Trajanje posliježetvenog dozrijevanja

Na (grafikon 2. A,B) su prikazane distribucije frekvencija za broja dana do 50% i 90% energije klijanja kod 120 potomstava RIL iz križanja Bezostaja 1 × Klara. Roditelji Bezostaja 1 i Klara postigli su 50%-tnu energiju klijanja (Grafikon 2. A) nakon 10 odnosno 30 dana posliježetvenog dozrijevanja s prosjekom (MP) od 20 dana. Broja dana do 50% energije klijanja kod RIL potomstvima se kretao u rasponu od 0 do 50 dana s prosjekom od 12,6 dana, što je znatno manje od roditeljskog prosjeka. Distribucija je nagnuta udesno s najvećim brojem potomstava na razini Bezostaje 1 (10 dana za postizanje 50%-tne energije klijanja). Blizu 30 potomstava ostvario je energiju klijanja >50% već u žetvenoj zriobi dok je svega nekoliko potomstava za postizanje energije klijanja >50% trebalo veći broj dana od dormantnog roditelja Klare (40 i 50 dana). Distribucije frekvencija za broja dana do 90% energije klijanja kod RIL potomstava (Grafikon 2. B). je razvučen (raspon broja dana od 0 do >60) s prosjekom od 33,4 dana, ponovo znatno manjim od roditeljskog prosjeka (45 dana). Veći broj potomstava (oko 50) je imao kraći period posliježetvenog dozrijevanja za postizanje energije klijanja >90% od nedormantnog roditelja Bezostaje 1 (0 do 20 dana) dok je kod 10 potomstava ovaj period trajao dulje nego kod dormantnog roditelja Klare (> 60 dana).



**Grafikon 2. A i B** Distribucija broja dana do 50% (A) i 90% (B) energije klijanja (EK) kod 120 potomstava RIL iz križanja Bezostaja 1 × Klara; MP-prosjeak roditelja.

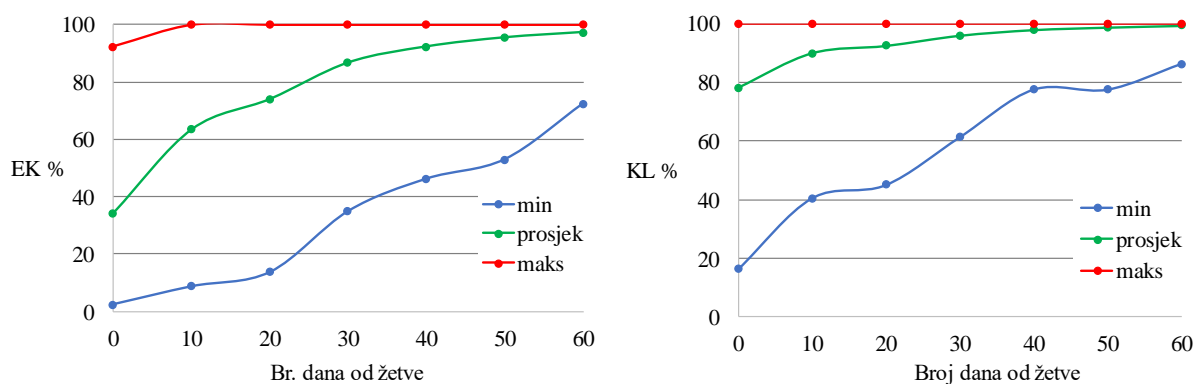
Na (grafikon 3., A i B) su prikazane distribucije frekvencija za broj dana do 50% i 90% klijavosti kod 120 potomstava RIL iz križanja Bezostaja 1 × Klara. Roditelji Bezostaja 1 i Klara postigli su 50%-tnu klijavost nakon 0 odnosno 10 dana posliježetvenog dozrijevanja (Grafikon 3. A) a 90%-tnu klijavost nakon 10 odnosno 60 dana (Grafikon 3. B). Većina linija (preko 100) postigla je klijavost od 50% već u žetvenoj zriobi, a 90%-tnu klijavost od 0 do 10 dana nakon žetvene zriobe. Prosjeci RIL populacije kako za broj dana do 50% tako i do 90% klijavosti bili su znatno manji od prosjeka roditelja.



**Grafikon 3. A i B** Distribucija broja dana do 50% (A) i 90% (B) klijavosti (KL) kod 120 potomstava RIL iz križanja Bezostaja 1 × Klara; MP-prosjeak roditelja

#### 4.4. Uzorak posliježetvenog dozrijevanja

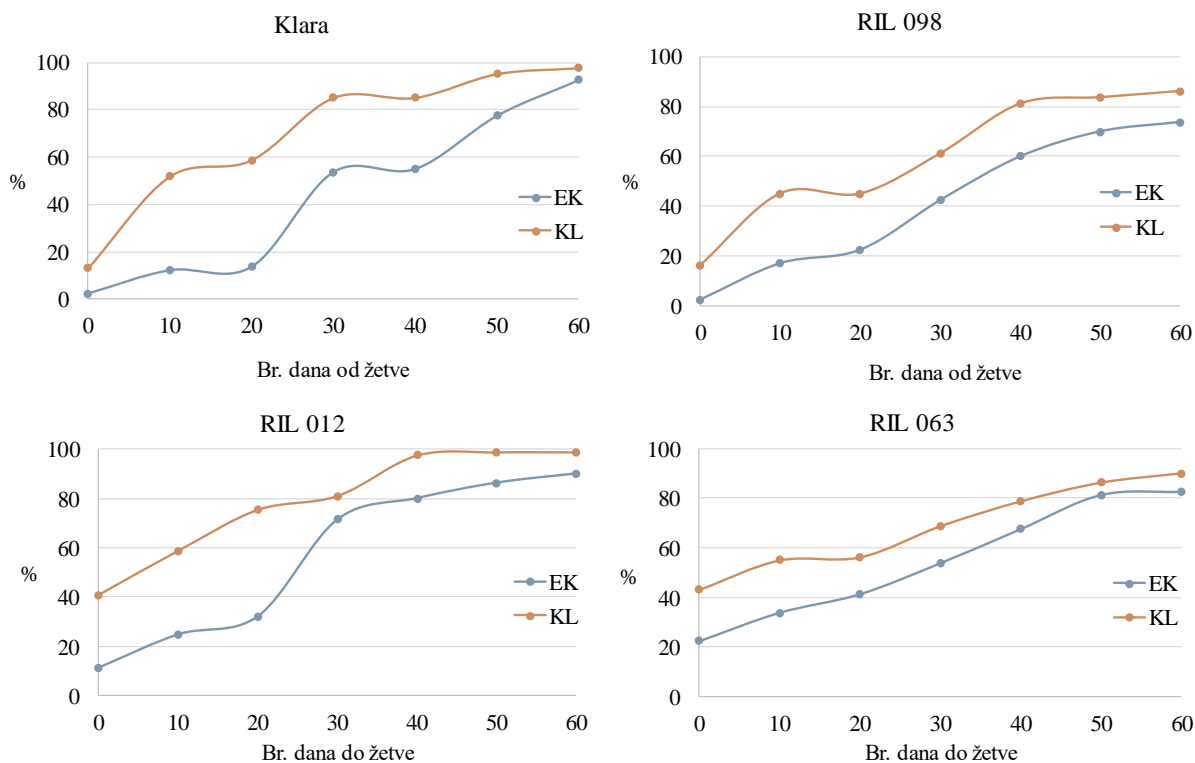
Krivulje prosječnog posliježetvenog dozrijevanja za energiju klijanja i klijavost za 120 potomstava RIL prikazane su na (grafikon 4.) Prosječna energija klijanja u žetvenoj zriobi za sve genotipove bila je oko 40% s rasponom vrijednosti od oko 0% do 90%, dok je prosječna klijavost bila 80% i kretala se u rasponu od 20 do 100%. Puna energija klijanja (blizu 100%) postignuta je u prosjeku 20 dana kasnije (nakon 60 dana) od pune klijavosti (nakon 40 dana).



**Grafikon 4.** Krivulja energije klijanja (EK) i klijavosti (KL) u periodu posliježetvenog dozrijevanja prikazana prosjekom svih 120 potomstava RIL kao i minimalnim (min) i maksimalnim (maks) vrijednostima parametara klijavosti

Na (grafikon 5.) do (grafikon 8.) prikazani su različiti uzorci poliježetvenog dozrijevanja između skupina s različito izraženom dormantnošću u žetvenoj zriobi. Skupine su predstavljene s dva ili četiri genotipa koji se unatoč jednakoj razini dormantnosti zrna u žetvenoj zriobi međusobno razlikuju u brzini gubitka dormantnosti nakon žetve kao i u udjelu energije klijanja u ukupnoj klijavosti. Genotipovi s relativno nižim udjelom energije klijanja u ukupnoj klijavosti pokazuju tzv. odgođeno klijanje.

Na (grafikon 5.) prikazane su krivulje energije klijanja (EK) i klijavosti (KL) u periodu posliježetvenog dozrijevanja za prvu skupinu genotipova koja uključuje dormantnog roditelja Klaru i tri potomstva s izraženom dormantnošću zrna u žetvenoj zriobi kao i tijekom posliježetvenog dozrijevanja (RIL 098, RIL 012 i RIL 063). Klara i RIL 098 imali su u žetvenoj zriobi klijavost ispod 20% a energiju klijanja oko 0%. Međutim Karla je pokazivala brže posliježetveno dozrijevanje od RIL 098 postigavši punu klijavost nakon 50 dana, a punu energiju klijanja nakon 60 dana od žetve. S druge strane RIL 098 nije postigla punu klijavost niti nakon 60 dana od žetve. Druga dva genotipa (RIL 012 i RIL 063) prikazana u ovoj skupini su imala nešto slabije izraženu dormantnost u žetvenoj zriobi u odnosu na Klaru (klijavost oko 40% i energija klijanja oko 20%). Njihovom međusobnom usporedbom vidljivo je brže posliježetveno dozrijevanje za klijavost kod RIL 012 nego kod RIL 063. Međutim kod RIL 012 je odgođeno klijanje u prvom dijelu posliježetvenog dozrijevanja izraženije u usporedbi s RIL 063. Genotip RIL 063 je u žetvenoj zriobi imao znatno veće klijavosti i energije klijanja od Klare. Međutim zbog izrazito sporijeg posliježetvenog dozrijevanja od Klare njegova je dormantnost u drugoj polovici perioda nakon žetve na razini Klare.

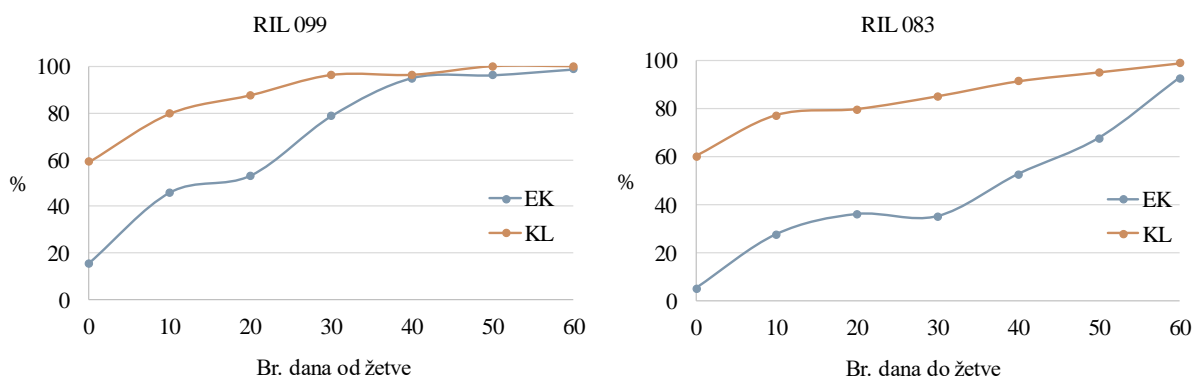


**Grafikon 5.** Krivulje energije klijanja (EK) i klijavosti (KL) u periodu posliježetvenog dozrijevanja za dormantnog roditelja Klaru i tri potomstva RIL 098, RIL 012 i RIL 063

Na (grafikon 6.) prikazane su krivulje energije klijanja (EK) i klijavosti (KL) u periodu posliježetvenog dozrijevanja za dva potomstva s umjereno izraženom dormantnošću zrna RIL 099 i RIL 083. Oba genotipa su u žetvenoj zriobi imala istu razinu klijavosti od 60%. Međutim potomstvo RIL 099 je postiglo punu klijavost nakon 30 dana a potomstvo RIL 083 za 50 dana. Iako je kod dva potomstva jednaka klijavost u žetvenoj zriobi kod RIL 099 je energija klijanja

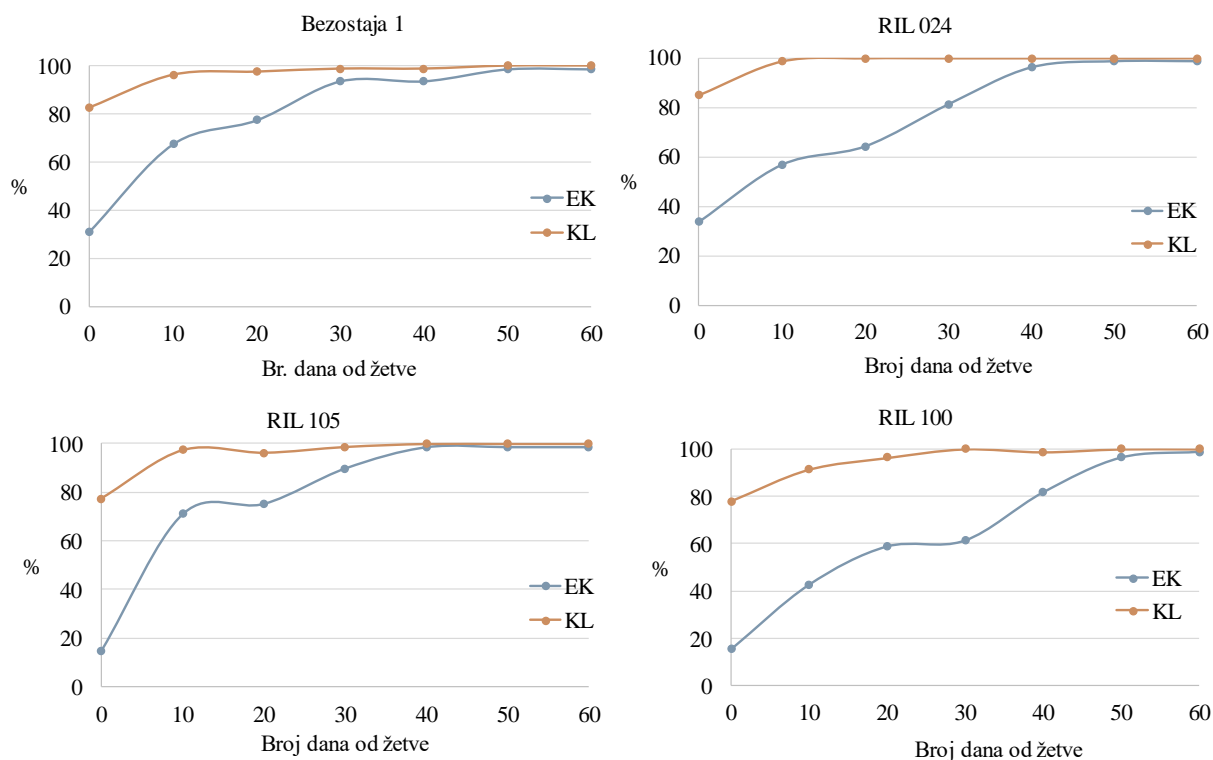


niža u odnosu na RIL 083. Manji relativni udio EK u ukupnoj klijavosti kod RIL 083 u odnosu na RIL 099 zadržava se tijekom cijelog perioda posliježetvenog dozrijevanja tako da punu energiju klijanja RIL 083 postiže 20 dana nakon RIL 099.



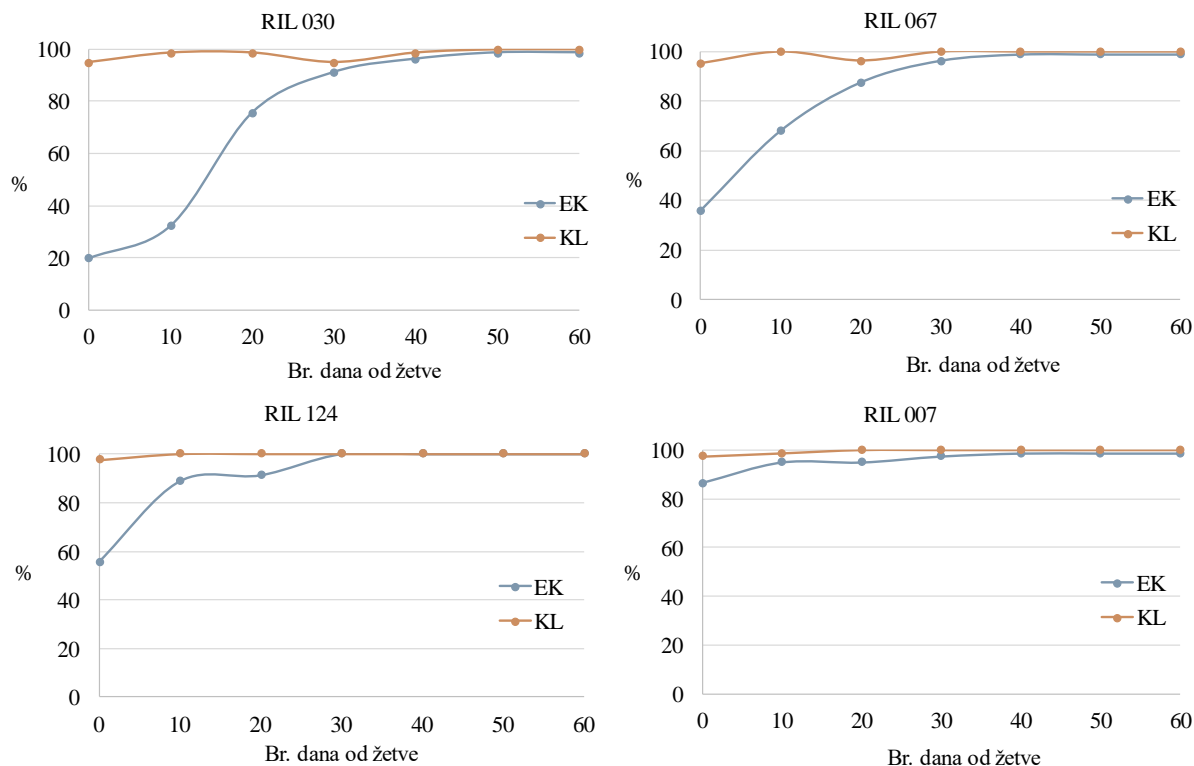
**Grafikon 6.** Krivulje energije klijanja (EK) i klijavosti (KL) u periodu posliježetvenog dozrijevanja za potomstva RIL 099 i RIL 083

Na (grafikon 7.) su prikazane krivulje energije klijanja (EK) i klijavosti (KL) za nedormantnog roditelja Bezostaju 1 i tri RIL potomstva niske razine dormantnosti zrna u žetvenoj zriobi. Klijavost u žetvenoj zriobi kod sva četiri genotipa bila je oko 80% i svi su imali kratak period posliježetvenog dozrijevanja postigavši punu klijavost već 10 dana (Bezostaja 1, RIL 024 i RIL 105) odnosno 20 dana (RIL 100) nakon žetve. Udio energije klijavosti u žetvenoj zriobi kod Bezostaje 1 i RIL 024 bi je jednak (EK oko 35%) ali je RIL 024 pokazivala sporije posliježetveno dozrijevanje postigavši punu energiju klijanja 10 dana kasnije od Bezostaje 1. Kod genotipova RIL 105 i RIL 100 relativni udio energije klijanja u ukupnoj klijavosti u žetvenoj zriobi bio je manji u odnosu na Bezostaju 1. Kod ova dva genotipa vidljiva je razlika u brzini posliježetvenog dozrijevanja za energiju klijanja kao i uzorku odgođenog klijanja od 10 do 30 dana nakon žetve.



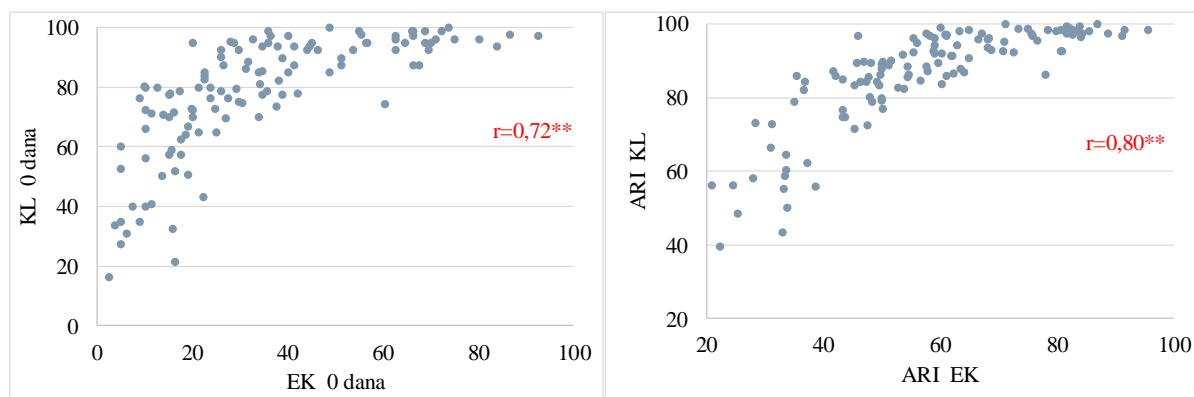
**Grafikon 7.** Krivulje energije klijanja (EK) i klijavosti (KL) u periodu posliježetvenog dozrijevanja za Bezostaju 1 i potomstava RIL 024, RIL 105 i RIL 100

Na (grafikon 8.) su prikazane krivulje energije klijanja (EK) i klijavosti (KL) za genotipove ekstremno kratkog perioda posliježetvenog dozrijevanja koji su predstavljeni potomstvima RIL 030 i RIL 067, RIL 124 i RIL 007. Kod sva četiri potomstva puna klijavost je postignuta u periodu od 0 do 10 dana nakon žetve. Međutim navedeni genotipovi su pokazali izrazito velike razlike u energiji klijanja (u rasponu od 20 do preko 80%) u žetvenoj zriobi što se odrazilo na različitu brzinu kao i uzorak posliježetvenog dozrijevanja za njihovu energiju klijanja.



**Grafikon 8.** Krivulje energije klijanja (EK) i klijavosti (KL) u periodu posliježetvenog dozrijevanja za potomstvo RIL 030 i RIL 067, RIL 124 i RIL 007

Opažena nekonzistentnost u udjelu energije klijanja u ukupnoj klijavosti kao i u različitim uzorcima posliježetvenog dozrijevanja za energiju klijanja i klijavost odrazile su se i na korelacijske odnose parametara klijavosti prikazane na (grafikon 9.).

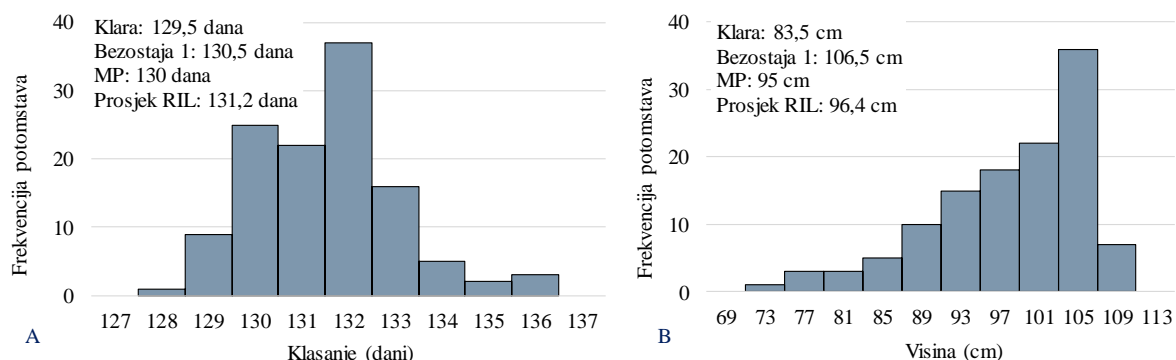


**Grafikon 9.** Korelacije između energije klijanja (EK) i klijavosti (KL) u žetvenoj zriobi (0 dana) (lijevo) i indeksa posliježetvenog dozrijevanja za EK i KL (desno) kod 120 potomstava RIL iz križanja Bezostaja 1 × Klara

#### 4.5. Ranozrelost i visina

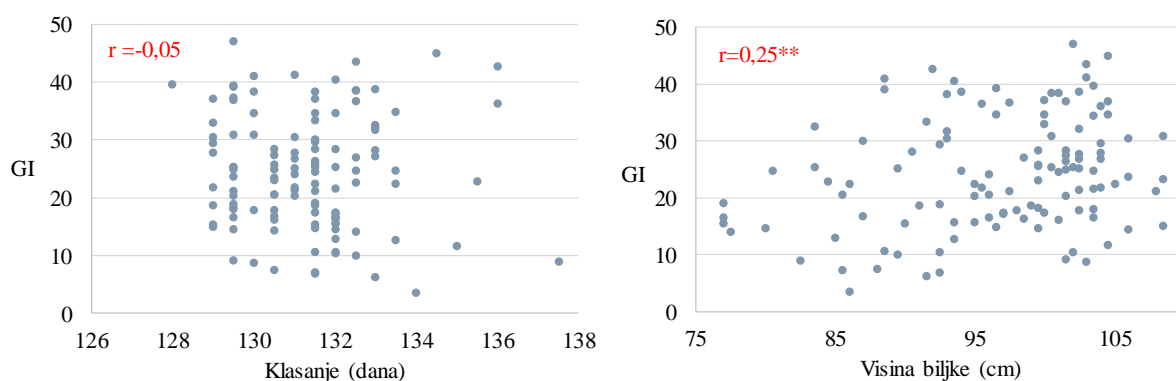
Na (grafikon 10.) prikazana je distribucija broja dana do prosječnog klasanja (A) i visine biljke (B) kod 120 potomstava RIL iz križanja Bezostaja 1 × Klara. Roditelji se nisu

signifikantno razlikovali u broju dana do klasanja (grafikon 9. A). Također prosječni broj dana kod RIL potomstava nije bio signifikantno različit od prosjeka roditelja. Ipak je broj transgresivnih segreganata veći u smjeru kasnijeg roditelja (Bezostaje 1). Za visinu biljke su utvrđene signifikantne razlike između roditelja (grafikon 9. B). Prosječna visine biljke kod RIL potomstava bila je na razini prosjeka roditelja.



**Grafikon 10.** Distribucija broja dana do prosječnog klasanja (A) i visine biljke (B) kod 120 potomstava RIL iz križanja Bezostaja 1 × Klara; MP-prosjek roditelja

Na (grafikon 11.) su prikazani korelacijski odnosi između indeksa klijanja GI u žetvenoj zriobi i brojem dana do klasanja (lijevo) te visine biljke (desno) kod 120 potomstava RIL iz križanja Bezostaja 1 × Klara. Nije utvrđena signifikantna korelacija GI s brojem dana do klasanja, dok je korelacija GI s visinom biljke bila slaba pozitivna ( $r=0,25^{**}$ ). Budući da je GI obrnuto proporcionalan s razinom dormantnosti, njegova pozitivna korelacija s visinom upućuje na slabiju dormantnost zrna kod viših RIL potomstava.



**Grafikon 11.** Korelacije između indeksa klijanja GI u žetvenoj zriobi s brojem dana do klasanja (lijevo) i visinom biljke (desno) kod 120 potomstava RIL iz križanja Bezostaja 1 × Klara

Povezanost slabije dormantnosti s višim fenotipom u ovome istraživanju mogla bi biti i uvjetovana uskom vezanošću gena negativnog učinka na dormantnost zrna i gena za visinu prisutnih kod višeg nedormantnog roditelja Bezostaje 1. Kako navodi (Šarčević, 1998.) (Derera

i sur., 1977.), su izvijestili o signifikantnoj negativnoj korelaciji visine biljke s aktivnošću enzima klijanja  $\alpha$ -amilaze u zrnima uzetim pet dana poslije žetvene zrelosti, dok s druge strane, (Bhatt i Derera, 1980.) te (Wu, 1987.), prema (Šarčević, 1988) nisu dobili signifikantne korelacije između visine biljke i dormantnosti. Izvještaji u literaturi o korelaciji između parametara klijavosti pšenice i broja dana do klasanja su također kontradiktorni, a ovisili su i o proučavanom genetskom materijalu. (Hucl, 1995.) je ispitivao recipročne efekte selekcije na otpornost na proklijavanje odnosno ranozrelost u populacijama iz križanja različitih roditelja. Od dviju populacija u kojima je vršio selekciju na ranozrelost samo je u jednoj ranozrelost bila povezana sa smanjenom otpornošću na proklijavanje. U drugom eksperimentu povećana otpornost na proklijavanje bila je povezana sa slabim zakašnjenjem klasanja (1-2,5 dana) kod 4 od 6 ispitivanih populacija.

Radi procjene očekivanog koreliranog odgovora na selekciju za broj dana do klasanja i visinu biljke nakon selekcije na povećanu dormantnost zrna provedena je simulirana selekcija na smanjeni indeks klijanja (GI) u žetvenoj zriobi u početnoj populaciji od 120 RIL potomstava. Nakon selekcije slabijeg intenziteta (25% izabranih potomstava) došlo je do signifikantnog smanjenja vrijednosti GI za 12,1 (tablica 4.). Selekcija ovoga intenziteta nije imala signifikantan učinak na broj dana do klasanja ali je došlo do signifikantnog smanjenja prosječne visine biljke za 3,6 cm. Ovo je u skladu s očekivanjima budući da je u RIL populaciji utvrđena pozitivna korelacija GI s visinom biljke ( $r=0,25^{**}$ ) dok je korelacija GI s brojem dana do klasanja bila zanemariva ( $r=-0,05$ ). Ipak kod jačeg intenziteta selekcije (12,5% izabranih potomstava) osim visine biljke došlo je i do signifikantnog povećanja prosječnog broja dana do klasanja kod izabranih potomstava.

**Tablica 4.** Prosječna vrijednost svojstava indeks klijanja, broja dana do klasanja i visine biljke prije i nakon simulirane selekcije na smanjeni indeks klijanja (GI) u žetvenoj zriobi provedenoj u početnoj populaciji od 120 RIL potomstava

Genotip	GI	Klasanje (dana)	Visina biljke (cm)
Sva RIL potomstva	24,5	131,3	96,4
Intenzitet selekcije 25%			
Izabrana RIL potomstva	12,3	131,7	92,9
Selekcijski diferencijal (SD)	-12,1 **	0,4	-3,6 *
SD (%)	-49,6	0,3	-3,7
Intenzitet selekcije 12,5%			
Izabrana RIL potomstva	9,1	132,4	92,4
Selekcijski diferencijal (SD)	-15,3 **	1,1 *	-4,0 *
SD (%)	-62,6	0,8	-4,1

\*, \*\* SD signifikantan kod  $P<0,05$  odnosno 0,01

## 5. Zaključna razmatranja

U ovome radu je procijenjena dormantnost zrna kod 120 RIL potomstava pšenice iz križanja nedormantnog roditelja Bezostaje 1 i dormantnog roditelja Klare. Dormantnost zrna je procijenjena pomoću testova klijavosti s ovršenim zrnima u žetvenoj zriobi i tijekom perioda posliježetvenog dozrijevanja. Posebna je pozornost obraćena na dormantnost zrna u periodu 20 dana nakon žetvene zriobe budući da u navedenom periodu postoji opasnost od priježetvenog proklijavanja. Heritabilnost energije klijanja i klijavosti u promatranom periodu bila je relativno visoka (0,82 do 0,93) što je garancija uspješnosti selekcije na povećanu dormantnost zrna. Heritabilnost za klijavost bila je veća od heritabilnosti za energiju klijanja u žetvenoj zriobi dok se s posliježetvenim dozrijevanjem nešto veća heritabilnost opažena za energiju klijanja. Stoga će izbor kriterija za selekciju (energija klijavosti vs. klijavost) ovisiti o procjeni duljine kritičnog perioda za pojavu priježetvenog proklijavanja u ciljanoj okolini za uzgoj izabranih genotipova. U RIL populaciji je opaženo transgresivno razdvajanje uglavnom u smjeru slabije izražene dormantnost od nedormantnog roditelja Bezostaje 1, dok je svega nekoliko potomstava imalo izraženiju dormantnost od dormantnog roditelja Klare. Ipak 42 RIL potomstva je imalo jednaku razinu energije klijanja kao Klara pa bi prema ovome kriteriju trebalo vršiti izbor genotipova kod selekcije na otpornost na proklijavanje.

Rezultati ovoga rada pokazuju da je uzorak posliježetvenog dozrijevanja različit kod ispitivanih RIL potomstava s izraženom nekonzistentnošću između krivulja energije klijanja i klijavosti što je u skladu s prethodnim rezultatima Šarčevića (1998). Kod simulirane selekcije na povećanu dormantnost zrna utvrđeno je signifikantno smanjenje visine biljke kao i do kasnijeg nastupanja klasanja kod izabranih potomstava. Povezanost jače izražene dormantnosti s nižim fenotipom u ovome istraživanju mogla bi biti i uvjetovana uskom vezanošću gena pozitivnog učinka na dormantnost zrna i gena za nižu stabiljiku prisutnih kod nižeg dormantnog roditelja Klare. S druge strane, imajući u vidu da je dormantni roditelj Klara bila ranija od nedormantne Bezostaje 1, povećanje kasnozrelosti kod izabranih potomstava mogla bi biti posljedica istovremenog provođenja testova klijavosti za sve genotipove bez obzira na njihove međusobne razlike u vremenu nastupanja fiziološke zriobe i početka posliježetvenog dozrijevanja. Stoga prilikom selekcije na otpornost na priježetveno proklijavanje ovisno o oplemenjivačkim ciljevima treba uzeti u obzir kako poželjne tako i nepoželjne učinke selekcije na korelirana svojstva.

## 6. Popis literature

1. Belderok, B. (1961), Seed dormancy problems in cereals, Field Crop Abstracts 21: 203-211
2. Belderok, B. (1968) Seed dormancy problems in cereals. Field Crop Abstracts 21: 203-211.
3. Beldrok, B. (1980) Induction of secondary dormancy in wheat crops by low temperatures and high humidities in the field. Cereal Research Communications 8: 167-173
4. Bhatt, G.M. and Derera, N.F. (1980) Potential use of Kenya 321-type dormancy in a wheat breeding programme aimed at evolving varieties tolerant to preharvest sprouting. Cereal Res. Commun. 8: 291-295.
5. Bhatt, G.M., Derera, N.F. and McMaster, G.J. (1976) Breeding whitegrained spring wheat for low alpha-amylase synthesis and insensitivity to gibberallic acid in grain. Cereal Res. Comm. 4: 245-250.
6. Bhatt, G.M., Paulsen, G.M., Kulp, K. and Heyne, E.G. (1981) Preharvest sprouting in hard winter wheats: assesment of methods to detect genotypic and nitrogen effects and interactions. Cereal Chem. 58: 300-302.
7. Biddulph, T.B., Mares, D.J., Plimmer, J.A. and Setter, T.L. (2005) Drought and high increases preharvest sprouting tolerance in a genotype without grain dormacy.
8. DePauw, R.M. and McCaig, T.N. (1987) Recovery of sprouting resistance from red-kernelled wheats in white-kernelled segregates. In: Fourth International Symposium on Pre-Harvest Sprouting in Cereals. pp. 54-63. D.J. Mares, ed., Westwiev Press, Boulder, Co, USA
9. DePauw, R.M., McCaig, T.N., Mares, D., Brennan, P., Henry, R.J., King, R., McEwan, J.M. and Gordon, I. (1990) Interrelationships among assays for germination of kernels from treshed spikes, untreshed spikes and alpha-amylase in wheat. In: Fifth International Symposium on Pre-Harvest Sprouting in Cereals. pp. 195-205. K.Ringlud, E. Mosleth and D.J. Mares, eds., Westwiev Press, Boulder, Co, USA.
10. Derera N.F. (1989) The effects of pre-harvest rain. Pre-harvest Field Sprouting in Cereals.
11. Derera, N.F. (1980), The adith of sprouting. Cereal. Res. Commun. 8: 15-22
12. Derera, N.F. (1990) A perspective of sprouting research. In Proceedings 5<sup>th</sup> International Symposium on Pre-Harvest Sprouting in Cereals, 3-11
13. Derera, N.F., Bhatt, G.M. and McMaster, G.J. (1977) On the problem of pre-harvest sprouting of wheat. Euphytica 26: 299-308

14. Feng, X. and Wenyan, X. (1993) Pre-harvest sprouting susceptibility in wheat in the Jianghuai and northern Huaihe region. In: Pre-Harvest Sprouting in Cereals 1992. pp. 91-97. M.K. Walker-Simmons and J.L. Ried, eds., AACC, St. Paul, Minnesota, USA.
15. Flintham, J.E. (1992) Grain color and sprouting resistance in wheat. In Proceedings 6<sup>th</sup> International Symposium on Pre-Harvest Sprouting in Cereals, 30-36
16. Gale, M.D. (1976) High alpha-amylase breeding and genetical aspects of the problem. Cereal Res. Commun. 4: 231-244.
17. Gale, M.D. and Lenton, J.R. (1987) Preharvest sprouting in wheat- a complex genetic and physiological problem affecting breadmaking quality of UK wheats. Aspects of Applied Biology 15: 115-124.
18. Hagemann, M.G. and Ciha, A.J. (1984) Evaluation of methods used in testing winter wheat susceptibility to pre-harvest sprouting. Crop Sci. 24: 249-254.
19. Harrington, G.T. (1923) Forcing the germination of freshly harvested wheat and other cereals. Journal of Agricultural Research Vol XXIII, No. 2: 79-97
20. Hickey L.T., Dieters, M.J., DeLacy I.H., Christopher M.J., Olena Y. Kravchuk, Phillip M. Banks, (2009) Screening for grain dormancy in segregating generations of dormant × non-dormant crosses in white-grained wheat (*Triticum aestivum* L.)
21. Hucl, P. (1995) Divergent selection for sprouting resistance in spring wheat. Plant Breeding 114: 199-204.
22. Ikić I. (2012) Ekspresija otpornosti na priježetveno proklijavanje kod pšenice (*Triticum aestivum* L.) u poljskim i laboratorijskim uvjetima. Doktorski rad, Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu
23. King, R.W. and Richards, R.A. (1984) Water Uptake in Relation to Pre-harvest Sprouting Damage in Wheat: Ear Characteristics. Aust. J. Agric. Res. 35: 327-336
24. Lalluka, U. (1976) The effect of the temperature during the period prior to ripening on sprouting in the ear in rye and wheat varieties grown in Finland. Cereal Res. Communications 4: 93-96
25. Lunn, G.D., Kettlewell, P.S., Major, B.J. and Scott, R.K. (2002) Variation in dormancy duration of the U.K. wheat cultivar Hornet due to environmental conditions during grain development. Euphytica 126: 89-97
26. Mares DJ (1999) The grain coat and dormancy in wheat grains. Proceedings of the eighth international symposium on pre-harvest sprouting in cereals 1998.



- Urednik Weipert D, Association of Cereal Research, Federal Centre for Cereal, Potato and Lipid Research, Detmold, pp 77–81.
27. Mares, D.J. (1984) Temperature Dependence of Germinability of Wheat (*Triticum aestivum* L.) Grain in Relation to Pre-Harvest Sprouting. Aust. J. Agric. Res. 35: 115-128
  28. Mares, D.J. (1993) a. Influence of rainfall and temperature during grain ripening on tolerance to pre-harvest sprouting in wheat in N.E. Australia. In Proceedings 6<sup>th</sup> International Symposium on Pre-Harvest Sprouting in Cereals, 362-366
  29. Mares, D.J. (1993) b. Pre-harvest Sprouting in Wheat. I. Influence of Cultivar, Rainfall and Temperature during Grain Ripening. Aust. J. agric. Res. 44: 1259-1272
  30. Martinčić J., Kozumplik V. (1996) Oplemenjivanje bilja, Poljoprivredni fakultet Osijek, Agronomski fakultet Zagreb
  31. McCrate, A.J., Nielsen, M.T., Paulsen, G.M. and Heyne, E.G. (1982) Relationship between sprouting in wheat and embryo response to endogenous inhibition. Euphytica 31: 193-200
  32. Miyamoto, T., Tolbert, N.E. and Everson, E.H. (1961) Germination inhibitors related to dormancy in wheat seeds. Plant Physiology 36: 739-746
  33. Mjoerum, J. (1990) The Effect of agronomic characters on sprouting damage in norwegian spring wheat. In: Fifth International Symposium on Pre-Harvest Sprouting in Cereals. pp. 39-44. K.Ringlud, E. Mosleth and D.J. Mares, eds., Westview Press, Boulder, Co, USA.
  34. MS Excel 2016, Microsoft Office, Microsoft Corporation, (2016)
  35. Nakatsu, S. (1998) Effects of weather conditions at ripening stage on  $\alpha$ -amylase in wheat grain at maturity. In Proceedings 8<sup>th</sup> International Symposium on Pre-Harvest Sprouting in Cereals, 159-174
  36. Nielsen, M.T., McCrate, A.J., Heyne, E.G. and Paulsen, G.M. (1984) Effect of Weather variables During Maturation on Preharvest Sprouting of Hard White Winter Wheat. Crop Science, Vol. 24: 779-782
  37. Nilsson-Ehle, H. (1914) Zur Kenntnis der mit der Keimungsphysiologie des Weizens im Zusammenhange stehenden inneren Faktoren. Zeitschrift für Pflanzenzüchtung 2, 153-187.
  38. Olered, R. (1967) Development of  $\alpha$ -amylase and falling number in wheat and rye during ripening. Vaxtodling Plant Husbandry No. 23: 1-106., Uppsala.

39. Olsson, G. and Mattsson, B. (1975) Seed dormancy in wheat under different weather conditions. In Proceedings 1<sup>th</sup> International Symposium on Pre-Harvest Sprouting in Cereals, 181-185
40. Reddy, L.V., Metzger, R.J. and Ching, T.M. (1985) Effect of Temperature on Seed Dormancy of Wheat. *Crop Science* Vol. 25: 455-458
41. Reitz F. (1967) World distribution and importance of wheat – Ed. *Wheat and wheat So improvement Publ. Am. Society of Agronomy* No 13 Madison Wisc.
42. Ringlud, K. (1980) Starch quality in wheat and barley at different maturity stages in relation to seed dormancy. *Cereal Res. Commun.* 8: 193-197.
43. Salmon, D.F., Helm, J.H., Duggan, T.R. and Lakeman, D.M. (1986) The Influence of Chaff Ectracts on the Germination of Spring Triticale. *Agronomy Journal* 78: 863-867
44. SAS Institute Inc. (2003) SAS/STAT user's guide version 9.1. SAS Institute Inc., Cary
45. Soper, J.F., Cantrell, R.G. and Dick, L.W. (1989) Sprouting damage and kernel color relationship in durum wheat. *Crop Sci.* 29: 895-898.
46. Strand, E. (1983) Effects of Temperature and Rainfall on Seed Dormancy of Small Grain Cultivars. In Proceedings 3<sup>rd</sup> International Symposium on Pre-Harvest Sprouting in Cereals, 260-266
47. Strand, E. (1989) Studies on seed dormancy in small grain species. II Wheat Norwegian *Journal of Agricultural Sciences* 3: 85-99.
48. Strand, E. (1990) Effects of Environmental Factors on Seed Dormancy in Cultivars of Wheat, Barley and Oats. In Proceedings 5<sup>th</sup> International Symposium on Pre-Harvest Sprouting in Cereals, 15-26
49. Šarčević, H. (1998) Procjena dormantnosti i proklijavanja u klasu pšenice (Tr. aestivum). Magistarski rad, Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagreb
50. Šarčević, H., Martinić-Jerčić, Z., Barić, M. and Gunjača, J. (2000) Pre-Harvest Sprouting and Dormancy in Diverse Wheat Genotypes. *Agriculturae Conspectus Scientificus* Vol. 65, No. 2: 115-121
51. Torada, A. and Amano Y. (2002) Effect of seed coat color on seed dormacy in different environments. *Euphytica* 126: 99-105
52. Upadhyay, M.P., Morris, C.F. and Paulsen, G.M. (1988) Characterization of preharvest sprouting resistance in Clark's Cream white winter wheat. *Euphytica* 38: 85-92
53. Vasilj Đ. (2000) Biometrika i eksperimentiranje u biliniogojstvu, Hrvatsko agronomsko društvo, Zagreb.

54. Walker-Simmons, M. (1987) ABA Levels and Sensitivity in developing Wheat Embryos of Sprouting Resistant and Susceptible Cultivars. *Plant Physiol.* 84: 61-66
55. Wu, Z. (1987) Studies on dormancy and pre-harvest sprouting in chinese wheat cultivars. In: *Fourth International Symposium on Pre-Harvest Sprouting in Cereals*. pp. 408-413. D.J. Mares, ed., Westwiev Press, Boulder, Co, USA
56. Yanagisawa, A., Nishimura, T., Amano, Y., Torada, A. and Shibata S. (2005) Development of winter wheat with excellent resistance to pre-harvest spouting and rain damage. *Euphytica* 143: 313-318

## Životopis

Bruno Rajković je rođen u Zagrebu 5. prosinca 1992. godine. Veći dio djetinjstva je proveo u Karlovcu, gdje je pohađao osnovnu školu nakon koje je upisao opću gimnaziju Karlovac. Nakon srednje škole je upisao preddiplomski studij Biljne znanosti. Nakon obrane završnog rada 2015. godine, na temu „Otpornost genotipova pšenice na fuzarijsku palež klasa“, koji je bio izrađen u suradnji sa Bc Institutom za oplemenjivanje i proizvodnju bilja Zagreb, stekao je titulu Sveučilišni prvostupnik (baccalaureus) inženjer biljnih znanosti (univ. bacc. ing. agr.). Nakon preddiplomskog studija, 2015. godine je upisao diplomski studij Biljne znanosti. Tokom studiranja je odradio praksu na zavodu za specijalnu proizvodnju bilja i zavodu za oplemenjivanje bilja, genetiku i biometriku, te jedan dio prakse u Bc Institutu za oplemenjivanje i proizvodnju bilja Zagreb. Osim prakse, tokom studiranja je radio mnoštvo studentskih poslova, a slobodno vrijeme voli utrošiti na biciklizam i veslanje.